Das Wachstum von Blaualgen in mineralischen Nährlösungen.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen philosophischen Fakultät

der

Vereinigten Friedrichs-Universität Halle-Wittenberg

vorgelegt

von

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

Heinrich Maertens
aus Naumburg a. S.

Halle a. S.
1914.

Referent: Prof. Dr. **E. Pringsheim.**

Tag der mündlichen Prüfung: 29. Juli 1914.

Meinen Eltern

in Dankbarkeit gewidmet.

Inhaltsübersicht.

Seite

I. Einleitung 1

II. Methodik 2

III. Die Bedeutung der Stickstoffquellen 9

1. Nitrate 17

2. Nitrite 21

3. Ammoniumsalze 22

IV. Die Bedeutung der übrigen Nährsalze 33

1. Ist Calcium notwendig? 33

2. Läßt sich Kalium durch Natrium ersetzen? 39

3. Optimale Konzentration des Kaliums und des Phosphors 44

V. Die optimale Reaktion der Nährlösung 47

VI. Übersicht und ökologische Bedeutung der Ergebnisse 54

VII. Zusammenfassung 58

Das Wachstum von Blaualgen in mineralischen Nährlösungen.

Von **Heinrich Maertens.**

I. Einleitung.

Die Physiologie der Cyanophyceen ist in letzter Zeit wiederholt Gegenstand der Untersuchung gewesen. Die Abhängigkeit der Färbung von der Ernährung wurde eingehend bei Blaualgen von Boresch[1]) und Magnus und Schindler[2]) studiert. Die Autoren fanden, daß sich bei Verarmung der Nährlösungen an Nahrungsstoffen, besonders Stickstoffsalzen, eine von dem typischen Aussehen der Cyanophyceen abweichende Farbe bemerkbar machte. Die Verfärbung ins Gelb bis Braunrote konnte bei Darreichung von neuem Stickstoffsalz wieder rückgängig gemacht werden.

Im Jahre 1912 gelang es Pringsheim[3]) als erstem eine Methode aufzufinden, absolute Reinkulturen von Blaualgen herzustellen. Die in Reinkultur gewonnenen Arten waren einige Oscillarien und eine Nostoc-Spezies. Ferner führte er den Nachweis, daß die kultivierten Arten die verschiedensten organischen Stickstoffverbindungen verarbeiten können. Eine deutliche Förderung des Wachstums konnte weder durch sie noch durch andere organische Stoffe bewirkt werden. Rein autotrophe Ernährung wurde mit Nitraten, Nitriten und Ammoniumverbindungen als Stickstoffquellen erzielt. Aber es wurde noch nicht genauer untersucht, welche Bedingungen die besten für diese niederen Organismen sind. Da sie in Nährlösungskulturen im Laboratorium gut wachsen und sich für Experimente besonders eignen, so führte ich

---

[1]) K. Boresch, Zur Physiologie der Blaualgenfarbstoffe. Lotos LVIII. Prag 1910.

[2]) Magnus und Schindler, Über den Einfluß der Nährsalze auf die Oscillarien. Bericht der deutschen botanischen Gesellschaft 1912, Bd. 30, S. 314.

[3]) E. G. Pringsheim, Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen, III. Beiträge zur Biologie der Pflanzen, begründet von Dr. Ferd. Cohn. Bd. XII, 1913.

auf Anregung des Herrn Professor Dr. Pringsheim, eine größere Anzahl von Versuchsreihen durch, um die Bedeutung der Zusammensetzung von Nährlösungen festzustellen. In erster Linie kam es mir darauf an, die Bedeutung der verschiedensten Stickstoffquellen für Blaualgen genauer zu untersuchen, und zu beobachten, in welcher Konzentration das Wachstum der Alge am besten gefördert wurde. Welche Rolle die übrigen Nährsalze spielen, wird in einem weiteren Abschnitt zu behandeln sein. Es wurde geprüft, ob Calcium für Blaualgen ein notwendiges Element darstellt und ob Kalium sich durch Natrium ersetzen läßt. Als wichtig erschien es ferner, einmal der Frage näher zu treten, welche Reaktion der Nährlösung sich für Blaualgenkulturen am förderlichsten erweist, und inwiefern schwache Acidität und Basicität von ihnen noch vertragen werden kann. Da ja bekanntlich die Cyanophyceen an sehr mannigfaltigen Standorten angetroffen werden, wie sie in verschmutzten Abwässern einerseits und sterilen Sandböden andererseits vorliegen, so kann man schon aus diesem Grunde schließen, daß bei der Durchführung der angegebenen Versuche sich Unterschiede in der Ernährungsweise ergeben müssen. Allein innerhalb der Gattung Cylindrospermum, die von Seiten meines Kollegen Glade[1]) eingehend untersucht wurde, haben sich zahlreiche ernährungsphysiologische Verschiedenheiten ergeben. Es war daher mein Bestreben, Arten möglichst verschiedener Gattungen zu bekommen und auf diese meine Versuche auszudehnen.

II. Methodik.

Die in Kultur genommenen Blaualgen, die ich teils von Herrn Professor Dr. Pringsheim und von meinem Kollegen Glade erhielt, teils selbst in den Gewächshäusern des botanischen Gartens zu Halle gefunden habe, mußten auf einem geeigneten Substrat gezüchtet werden, nicht allein wegen der Erhaltung der Art, sondern hauptsächlich um genügendes Impfmaterial für die Ernährungsversuche zu haben. Als außerordentlich günstig erwiesen sich Petrischalen mit Kieselgallerte, welche schon in den Pringsheimschen Arbeiten näher beschrieben wurden. Die als Kieselgallerteplatten bezeichneten Schalen wurden mit einer für meine Cyanophyceen geeigneten Nährlösung versehen. Dieselbe bestand aus 0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4$ + 7 H_2O + Spur $Fe_2(PO_4)_2$. Das Eisen konnte auch weggelassen werden, da es sich in dem Leitungswasser in genügender Menge vorfand, das zum Wässern der Platten benutzt worden war. An Stelle des Calciumnitrats wurde auch Kaliumnitrat erfolgreich verwendet. Dann konnte

[1]) R. Glade, Zur Kenntnis der Gattung Cylindrospermum. Beiträge z. Biologie d. Pflanzen Bd. XII, S. 295. 1914.

das Kaliumphosphat durch Ammoniumphosphat ersetzt werden, ohne daß sich eine merkliche Beeinflussung des Wachstums zeigte. Nachdem die Nährlösung in die Gallerte hineindiffundiert war, wurde die darüber stehende Flüssigkeit abgegossen, und die Petrischalen wurden im Dampftopfe sterilisiert. Nach Verlauf von 24 Stunden wurde dieser Prozeß wiederholt, um die nach der ersten Sterilisation noch nicht getöteten Pilzsporen nun nach erfolgter Keimung vollends abzutöten. Trotzdem konnte es geschehen, daß bei nicht genügendem Auskühlen im geschlossenen Dampftopf neue Pilzsporen aus der Laboratoriumsluft eingesogen wurden und die Kulturen verunreinigten. Nur durch häufiges Abimpfen konnten dieselben wieder rein erhalten werden.

Auf so vorbehandelten Kieselgallerteplatten gediehen meine Blaualgen vorzüglich. Da sie in kurzer Zeit ausgedehnte Räschen bildeten, so war ich imstande, zu jeder Zeit für meine Versuche frisches und wachstumsfähiges Impfmaterial zur Verfügung zu haben.

Was nun die Kultur der Algen in künstlich zusammengesetzten Nährlösungen betrifft, so ist nach den Erfahrungen Molischs[1]) und anderer Autoren auf gewisse Punkte bei der Bereitung der Lösungen besonders zu achten. Dies gilt in erster Linie von den zur Verwendung kommenden Nährsalzen und Glasgefäßen. Jeder, der sich mit Mikroorganismen einige Zeit beschäftigt hat, wird die Erfahrung gemacht haben, daß gerade niedere Algen von äußerst geringen Mengen mineralischer Stoffe leben können. Dies beweist schon das Auftreten kleiner Grünalgen in destilliertem Wasser oder in Glasflaschen, in denen die Lösungen einzelner Salze aufbewahrt werden. Deshalb ist bei der Bereitung der Nährlösungen mit größter Vorsicht zu Werke zu gehen. Jede Verunreinigung der Nährsalze muß so weit als möglich ausgeschaltet werden. Würden dieselben nicht erst einer besonderen Reinigung unterzogen, so würde man zu ganz falschen Versuchsresultaten gelangen. Die bei meinen Versuchen zur Verwendung kommenden Salze waren von Kahlbaum und Merck bezogen und die garantiert reinsten. Bei der Herstellung der Nährlösungen benutzte ich nur destilliertes Wasser, das ich zum zweiten Male in Jenenser Glasgefäßen destillierte.

Eine weitere Fehlerquelle bilden unsere gewöhnlichen Glasgefäße, soweit sie nicht aus widerstandsfähigem Glase hergestellt sind. Da ja die Glassubstanz bekanntlich Calcium, Kalium, Eisen und Silicium enthält, und davon während der Dauer eines Versuches Spuren in Lösung gehen, die schon genügen würden, Algen eine Entwicklung

---

[1]) H. Molisch, Die Ernährung der Algen. (Süßwasseralgen.) I. Abh. Sitzb. d. kais. Akad. d. W. in Wien. Math.-naturw. Kl. Bd. CIV. Abt. I. Okt. 1895.

zu gestatten, so mußte ich mich nach besonderen Hilfsmitteln umsehen. Um eine Lösung von Stoffen aus dem Glase zu verhüten, versah ich meine Gefäße mit einem Paraffinüberzug, wie ihn zuerst Molisch bei seiner Untersuchung über Grünalgen angewendet hat.

Bei der Herstellung der Paraffingefäße verfuhr ich folgendermaßen. Sämtliche Glassachen, die zur Bereitung der Nährlösungen dienten, wurden erst sorgfältig gereinigt. Ich bediente mich zu diesem Zweck der Chromschwefelsäure, die ich längere Zeit, mindestens eine Viertelstunde lang, auf die Innenwände der Kulturgefäße einwirken ließ. Die Säure leistet sehr gute Dienste, da sie vor allem jede organische Substanz zerstört. Auch haftet das Paraffin nach ihrem Gebrauch bedeutend besser an der Glaswand. Die Gefäße wurden nun gut gereinigt und im Trockenschrank sorgfältig getrocknet, da das Paraffin, sobald ein Hauch von Feuchtigkeit vorhanden ist, nicht an der Glaswand hält. Dann wurden kleine Stückchen von feinstem weißen Paraffin vom Schmelzpunkt 70° in die Gefäße getan, die hierauf noch einmal im Trockenschrank erwärmt wurden. Nachdem das Paraffin geschmolzen war, wurde unter stetigem Drehen des Gefäßes das erstarrende Paraffin an der Innenwand gleichmäßig verteilt, bis das ganze Innere schließlich von einem weißen Paraffinmantel ausgekleidet war.

Bei den Erlenmeyerkölbchen, die bestimmt waren, später die Nährlösung aufzunehmen, verfuhr ich etwas anders. Nachdem sie mit Paraffin versehen und mit reinster entfetteter Baumwollwatte verstöpselt waren, wurden sie im Trockenschrank eine halbe Stunde lang auf eine Temperatur von 120° gehalten. Auf diese Weise sind sie gleich sterilisiert. Dann tauchte ich sie, nachdem ich das flüssige Paraffin innen bis nahe an den Wattepfropf hatte fließen lassen, sofort in kaltes Wasser. Durch die plötzliche Abkühlung erzielte ich eine bessere homogene Schicht, die völlig blasenfrei war, während bei allmählichem Erstarren sich oft kleine Bläschen bildeten. Es ist von großer Wichtigkeit, daß die Paraffinschicht blasenfrei ist. Befanden sich noch Blasen im Paraffin, so platzten diese später gewöhnlich bei der Beschickung der Kölbchen mit Nährlösung. Die Flüssigkeit drang dann allmählich zwischen die Paraffin- und Glaswand ein und bewirkte ein Abblättern des Paraffinmantels.

Eine zweite Möglichkeit bieten in dieser schwierigen Frage die schon oben erwähnten widerstandsfähigen Gefäße aus Jenenser Geräteglas. Wenn man mit äußerster Sorgfalt und peinlichster Sauberkeit zu Werke geht, kann man auf diesem Wege auch zu ungetrübten Resultaten kommen. Bei der Reinigung der Jenenser Kölbchen, wie ich dieselben kurz nennen will, brachte ich eine Methode in Anwendung, die von Abegg für physikalisch-chemische Zweke erdacht worden ist. Nach der Behandlung mit Chromschwefelsäure dampfte ich die

Kölbchen eine Viertelstunde lang aus, um durch das stets frisch kondensierte heiße Wasser die löslichen Bestandteile möglichst zu entfernen. Solche vorbehandelten Gefäße waren recht gut brauchbar und konnten bei den kaliumfreien Kulturen auch mit Erfolg angewendet werden.

Nachdem die mit Nährlösung beschickten Kölbchen im Dampftopf sterilisiert waren, wurden sie geimpft und an ein Nordfenster gehängt. In den Sommermonaten wuchsen die Kulturen im diffusen Tageslicht ausgezeichnet; anders gestalteten sich die Lichtverhältnisse im Winter. Besonders in den Monaten Dezember und Januar war bei trübem Wetter das Wachstum äußerst gering. Ich hielt es daher für zweckmäßig, den Kulturen mehr Licht angedeihen zu lassen und hängte sie deshalb im Januar versuchsweise an ein Südfenster. Eine Förderung des Wachstums, die man vielleicht erwarten könnte, trat aber nicht ein, sondern gerade das Gegenteil machte sich geltend. Die grünen Algenfäden blichen bei direkter Sonnenbestrahlung allmählich aus und nahmen eine gelbliche Farbe an. Die Verfärbung konnte teilweise bis zu gänzlichem Erblassen der Fäden fortschreiten. Derartige total entfärbte Kulturen waren dann dauernd geschädigt und wuchsen nicht mehr, auch wenn sie den Einflüssen des direkten Sonnenlichtes nicht mehr ausgesetzt waren. Den Einfluß der Lichtstärke auf die Farbe der Cyanophyceen hatte schon Nadson[1]) entdeckt, und ich kann seine Befunde durch meine Erfahrungen durchaus bestätigen. Aus dem Dargelegten geht hervor, daß es in den Wintermonaten ziemlich schwierig ist, bei ungünstigen Lichtverhältnissen gute Kulturen zu erhalten. Dies gilt hauptsächlich von den Flüssigkeitskulturen. Kulturen auf Kieselgallerte oder Agar-Agar zeigten im Winter stets besseres Wachstum. Dasselbe konnte natürlich nicht die Intensität erreichen wie etwa in den für Algenkulturen günstigen Sommermonaten.

Was nun das lebende Algenmaterial betrifft, so bekam ich von Herrn Professor Dr. Pringsheim zu Beginn meiner Versuche einige Arten, die er damals schon mit Erfolg kultiviert hatte. Die Blaualgen waren speziesrein und entstammten teils Kieselgallerteplatten, teils Gipsblöcken in Deckelschalen. Erst später, nachdem es gelungen war, absolute Reinkulturen von diesen Arten herzustellen, war es mir vergönnt, auch bakterienfreies Algenmaterial für meine Versuche zu verwenden. Unter den Blaualgen befanden sich einige Oscillarien, ein Nostoc und eine einzellige Art; die Bestimmung der Arten, die ebenfalls von Seiten Pringsheims[2]) geschah, wurde nach Lemmer-

[1]) G. Nadson, Über den Einfluß der Lichtstärke auf die Färbung der Algen. Petersburg, 1903.

[2]) E. G. Pringsheim, Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen, III. Beiträge z. Biologie der Pflanzen Bd. XII. 1913. S. 63.

manns[1]) „Kryptogamenflora“ und nach der ausführlichen Monographie von Gomont[2]) ausgeführt.

Die in meinen Versuchen vorläufig als Oscillaria I gekennzeichnete Art sieht in größeren Lagern dunkelgrün aus. Die Trichome sind gerade und an den Enden zugespitzt. Die Endzelle ist deutlich abgerundet. Die Breite der Fäden beträgt nach eigener Messung 5—6, 5 μ, während Lemmermann für die Breite 4—6, 5 μ angibt. Die Zellen sind etwa $^1/_2$—$^1/_3$ mal so lang als breit. Die Querwände sind nicht granuliert und nicht eingeschnürt. Lemmermann nimmt dagegen für diese Art Granulation an, während Gomont gerade das Fehlen derselben hervorhebt. Da die übrigen Merkmale nach Gomont ebenfalls gut passen, so muß meine Art als Oscillaria brevis Kütz. identifiziert werden.

Die zweite als Oscillaria IV bezeichnete Art ist bedeutend feinfädiger und weist eine frische blaugrüne Farbe auf. Die Trichome sind gerade und an den Enden abgerundet. An den Scheidewänden befinden sich zwei Reihen von kleinen Pünktchen, ferner konnte meist eine schwache Einschnürung an den Querwänden festgestellt werden. Die Breite der Fäden beträgt 4—5 μ, die Zellen sind $^1/_3$—$^1/_2$ so lang als breit. Nach diesen Merkmalen entspricht diese Art der Oscillaria tenuis Ag. Auch stimmen die Abbildungen bei Gomont (Tafel VII, Figur 2 und 3) gut für diese Blaualge.

Die Bestimmung des Nostoc spec. gelang mir nicht in einwandfreier Weise. Da bei der Artfeststellung als wichtigstes Merkmal die Form und die Gestalt des Thallus in Frage kommt, so war, da ich frisches Algenmaterial an dem ursprünglichen Standort nicht beobachten konnte, eine nähere Speziesbezeichnung nicht gut möglich.

Noch schwieriger gestaltete sich die Identifizierung der einzelligen Blaualge. Die Zellen sind rundlich und zu vielen Hunderten nach allen Richtungen des Raumes zu Gallertlagern lose vereinigt. Ihre Farbe ist ein helleres Blaugrün. Dauerzellen sind nicht bekannt. Die Diagnose dürfte für eine Chroococcus spec. stimmen. Von einer genaueren Bezeichnung mußte ich wegen der außerordentlichen Kleinheit der Zellen leider absehen.

Eine weitere Art erhielt ich durch meinen Kollegen Glade[3]), welcher sie durch Anhäufungsversuche mit Erde aus dem botanischen Garten in Halle gewonnen hatte. Dieselbe war eine zu der Familie

---

[1]) E. Lemmermann, Kryptogamenflora der Mark Brandenburg. Algen I. Leipzig 1910.

[2]) M. Gomont, Monographie des Oscillariées, Ann. des sc. nat. sér. VII. Bot. T. XV.

[3]) R. Glade, Zur Kenntnis der Gattung Cylindrospermum. Beiträge z. Biologie d. Pflanzen Bd. XII. 1914. S. 306.

der Nostocaceen gehörende Cylindrospermum-Art, und ist als C. licheniforme forma typica bestimmt und eingehend beschrieben worden.

Neben zahlreichen Oscillarien, Nostocaceen und Chroococcaceen fand ich in Gewächshäusern eine Calothrix-Art. Dieselbe bildete an submersen Wasserpflanzen einen schwärzlich grünen Überzug. Es galt nun, diese Form speziesrein zu bekommen und sie von anhaftenden Diatomeen und kleinen Grünalgen zu befreien. Eine besonders geeignete Isolierungsmethode stellt das Kochsche Plattengußverfahren dar. Das zu isolierende Algenmaterial wurde möglichst fein in einem Uhrschälchen mit etwas Wasser zerrieben. Mit einer Pipette wurde etwas von der Flüssigkeit aufgenommen und in ein Röhrchen mit flüssigem Agar, der 0,02% KNO_3 + 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4$ + 7 H_2O enthielt und auf 40° abgekühlt worden war, übertragen. Aus diesem Röhrchen, das kräftig durchgeschüttelt wurde und den Ausgangspunkt für eine Reihe von Verdünnungen darstellte, wurde wieder etwa ein Kubikzentimeter Flüssigkeit genommen und mit dem Agar eines zweiten Röhrchens vermischt. Auf diese Weise wurden mehrere Verdünnungen hintereinander hergestellt und in Petrischalen gegossen. Dabei blieben immer einige Fäden der Blaualge, die man von den übrigen Verunreinigungen trennen wollte, lebendig. Durch die Verdünnungen wurden sie gut isoliert, und ich war imstande, in dem Agar mit Hilfe des Mikroskops einige Zellfäden zu entdecken, die, abgesehen von Bakterien, völlig von fremdem Material gesäubert waren. Diese wurden nun auf Kieselgallerteplatten abgeimpft und bildeten in kurzer Zeit den Ausgangspunkt neuer speziesreiner Algenkulturen. Bei einigermaßen schnellwachsenden Arten empfiehlt sich die Kochsche Trennungsmethode. Gloeocapsa- und Chroococcus-Arten, die sich sehr langsam vermehren, konnte ich auf diese Weise nicht trennen. Da den einzelnen Zellen zahlreiche Bakterien anhafteten, so wurde die Stelle im Agar in kurzer Zeit getrübt und undurchsichtig, worauf die Alge abstarb.

Die speziesrein gewonnene Calothrix mußte nun noch näher identifiziert werden. Die einzelnen Fäden sind am Grunde zwiebelartig angeschwollen, während sie sich nach ihrem entgegengesetzten Ende stark verjüngen und schließlich in ein feines Haar auslaufen. Die vegetativen Zellen erreichen eine Breite von 6—7 μ, und die Länge eines ganzen Zellfadens beträgt 200—250 μ. An den Scheidewänden sind die Fäden deutlich eingeschnürt. Die Zellen sind ½—⅓ mal so lang als breit. Die Grenzzellen finden sich stets in Einzahl vor, sie sind halbkuglig, größer als die vegetativen Zellen und sitzen dem basalen Ende eines jeden Fadens auf. Nach den Angaben Lemmermanns und einer Abildung Gomonts (Journ. de Bot. 1895 Figur 2 A) muß diese Art als Calothrix stellaris angesprochen werden.

Die Artbenennung besagt, daß sich die einzelnen Fäden strahlen- oder sternförmig zu kleinen Kolonien vereinigen.

Außer diesen mit Erfolg in Kultur genommenen Arten fanden sich auch solche, die sich für künstliche Kulturen nicht eigneten, sei es, daß sie sich von Natur schon viel zu langsam vermehrten, oder daß sie in wässrigen Lösungen überhaupt nicht gediehen. Zu den ersteren gehört die schon oben erwähnte Gloeocapsa- und Chroococcus-Art, zu der zweiten Gruppe eine von mir längere Zeit kultivierte Oscillaria. Die als O. sancta bestimmte Form fand ich als dicke schwarzbraune bis stahlblaue Überzüge auf Cladophora in einem Warmhaus des botanischen Gartens. Einmal fiel diese Oscillaria schon dadurch von den übrigen kultivierten Arten auf, daß die einzelnen Zellfäden unter dem Mikroskope eine bräunliche Färbung zeigten, ferner durch die bedeutende Dicke der Fäden, die 10—20 μ betrug. Außerdem waren die Fäden in viel lebhafteren Oscillationen begriffen als die von O. brevis und O. tenuis. Oscillaria sancta kultivierte ich aber mit Erfolg nur auf Kieselgallerteplatten in einer Nährlösung von 0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4$, wobei das Kalium auch als Nitrat und der Phosphor als Ammoniumphosphat ohne Unterschied in bezug auf das Wachstum ersetzt werden konnte. In Wasserkulturen, die die gleiche Zusammensetzung der Nährsalze wie die Kieselgallerteplatten enthielten, konnte ich dagegen keine Vermehrung der O. sancta feststellen. Die Alge wuchs überhaupt nicht und ging nach einiger Zeit zugrunde. Diese Verschiedenheit der Wachstumsergebnisse in den sonst gleichen Nährmedien beruht wahrscheinlich auf der physikalischen Verschiedenheit des Substrates. O. sancta besitzt ein starkes Kriechvermögen und kommt in der Natur auf anderen Algen vor, sodaß es vielleicht möglich ist, daß dieser Faktor irgendwie für die Lebensbedingungen dieser Art in hohem Maße ausschlaggebend ist.

Was nun die Weiterkultur der genannten Arten betraf, so wurden alle Arten auf Kieselgallerte mit der schon öfters erwähnten Nährsalzlösung über zwei Jahre lang erfolgreich gezüchtet, ohne daß sich beim fortwährenden Abimpfen ein und desselben Materials eine Schwächung bemerkbar machte. O. brevis, O. tenuis und Nostoc spec., die in absoluter Reinkultur vorlagen, wurden auf Heydenagar in schräg-liegenden Reagenzröhrchen über ein Jahr lang mit ausgezeichnetem Erfolg kultiviert. Der Heydenagar enthielt nach einer Mitteilung des Herrn Professor Dr. Pringsheim in 500 ccm destilliertem Wasser 1,5 g Heydennährstoff und 7 g gewässerten Agar-Agar. Im Autoklav wurde diese Mischung gekocht und durch ein Bäuschchen entfetteter Watte filtriert. Während O. tenuis und Nostoc spec. keine Ermüdung im Wachstum zeigten, ließ dasselbe bei O. brevis durch die fortgesetzte

Kultur in organischen Stoffen allmählich nach und mußte durch Übertragung auf Mineralsalzagar aufgefrischt werden.

Zum Schluß möchte ich noch auf die konstanten Größenverhältnisse der in Kultur genommenen Cyanophyceen, besonders der Oscillarien hinweisen. Zahlreiche an Oscillarien ausgeführte Maßbestimmungen zeigten keine Abweichungen von der normalen Zellgröße, obwohl das Algenmaterial aus den verschiedensten Nährlösungen stammte, in denen den Algen sowohl organische als auch anorganische Stickstoffquellen dargeboten worden waren. Ebenso konnten keine Größenunterschiede an Blaualgen festgestellt werden, die in wässrigen Lösungen oder auf Kieselgallerte und Agar-Agar gewachsen waren. Trotzdem könnte es aber möglich sein, daß in verschiedenen Nährmedien vielleicht erst in viel größeren Zeiträumen sich Abweichungen in der Breite und Länge der Zellen zeigen, und sich auf diese Weise Rassenunterschiede herausbilden; denn wie sollte man sich sonst z. B. die Entstehung der zahlreichen Oscillatoria-Arten erklären?

III. Die Bedeutung der Stickstoffquellen.

Stickstoff ist nach den Untersuchungen Molischs[1]) ein durchaus unentbehrliches Element für die Ernährung der Algen wie für alle Organismen. Seine stickstofffreien Kulturen waren nicht nur in ihrer Entwicklung gehemmt, sondern die Algen wurden farblos und begannen abzusterben. Vor allem hebt er als besonders wichtig hervor, daß für ein gedeihliches Wachstum Stickstoff in gebundener Form vorliegen müsse. Damit widerlegt er Franks[2]) Behauptung, daß alle grünen Pflanzen, somit auch die Algen, imstande seien, den elementaren Stickstoff der Luft zu assimilieren.

Gerade für Blaualgen ist aber wiederholt die Möglichkeit der N-Bindung angenommen worden. Am meisten Glauben hat die Angabe von Beijerinck[3]) gefunden, daß seine Cyanophyceen, vor allem Nostoc- und Anabaena-Arten, den atmosphärischen Stickstoff assimilierten, da die Nährlösung nur Spuren von Stickstoff enthielt, und trotzdem gutes Wachstum eintrat. In diesem Falle ist es aber sehr wahrscheinlich, daß stickstoffbindende Bakterien den Algen den fehlenden Stickstoff geliefert haben. Eine Prüfung dieser Möglichkeit

---

[1]) H. Molisch, Zur Ernährung der Algen (Süßwasseralgen). Sitzungsbericht d. kais. Ak. d. Wissenschaften zu Wien. Math.-naturw. Kl. 1897. Bd. CV. Abt. I. S. 793.

[2]) A. B. Frank, Über den Nachweis der Assimilation freien Stickstoffs durch erdbewohnende Algen. Ber. d. b. G. 1889. Bd. 7.

[3]) M. W. Beijerinck, Über oligonitrophile Mikroben. Zentralblatt f. Bakteriologie, II. Abt., Bd. VII. 1901.

hat Beijerinck nicht vorgenommen, auch die Erklärung, daß die genannten Arten vielleicht ein sehr geringes Stickstoffbedürfnis haben, hat er nicht ins Auge gefaßt.

Bis jetzt ist aber kein Fall bekannt, wonach Algen den elementaren Stickstoff verwerten können. In Lösungen ohne Zusatz von gebundenem Stickstoff ist kein Wachstum möglich.

In nachstehender Ausführung will ich mich nur auf anorganische Stickstoffverbindungen beschränken, aber zuvor soll uns ein kurzer Rückblick auf die Literatur über die Verwendbarkeit des anorganisch gebundenen Stickstoffs Aufschluß geben. Speziell auf dem Gebiete der Blaualgen liegen hier schon einige Erfahrungen vor.

Von den Forschern, die derartige Versuche angestellt haben, sind, wie aus der Einleitung der Pringsheimschen Arbeit[1]) ersichtlich ist, Ad. Richter, Molisch und Bouilhac zu nennen. Die Autoren hatten richtig erkannt, daß der pflanzliche Organismus der niedersten Algen den Stickstoff ebenso notwendig bedarf wie den Kalium-, Calcium- und Eisengehalt. Im vorliegenden Falle war die N-Quelle Calciumnitrat. Nach O. Richter[2]) war Bouilhac[3]) schon der Ansicht, daß Cyanophyceen den Stickstoff in Ammoniumverbindungen verwerten können.

Während die bisher erwähnten Forscher in der Hauptsache Nitrate als Stickstoffquellen für Cyanophyceen benutzt haben, hat neuerdings Pringsheim[1]) untersucht, inwiefern Nitritverbindungen und Ammoniumsalze als N-Quellen in Betracht kommen, und ob diese den Nitratstickstoff ersetzen können. Die Versuche, die die Wirkung verschiedener anorganischer Stickstoffquellen wiedergeben, waren folgende:

1) 0,05% KNO_3 + 0,02% $MgSO_4$ + 7 H_2O + 0,02% eines Gemisches von
2) = KNO_2 = = = 15 Teilen KH_2PO_4 u.
3) = $(NH_4)_2SO_4$ = = = 100 Teilen K_2HPO_4
4) = $(NH_4)_2HPO_4$ = = =
5) Kleine Menge NH_4MgPO_4 + 0,01% K_2SO_4 in dopp. dest. Wasser. Überall Spur $FeSO_4$ und $CaSO_4$.

Als Versuchsalge diente Oscillaria tenuis, die in Reinkultur vorlag. Die verschiedenen Stickstoffkulturen ergaben folgende Resultate: In allen Lösungen, außer in der Nitritlösung, wurde gutes Wachstum erhalten. Daß das Salz der salpetrigen Säure sich nicht als günstig erwies, beruht nach der Ansicht des Verfassers darauf, daß bei Anwesenheit von Nitrit die Lösung mehr basisch sein muß, wie etwa

---

[1]) E. G. Pringsheim, Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen III. Beiträge z. Biologie d. Pflanzen Bd. XII. 1913.

[2]) O. Richter, Die Ernährung der Algen. Leipzig 1911.

[3]) R. Bouilhac, Sur la fixation de l'azote atmosphérique par l'association des Algues et des bacteries. 1896. C. R. Bd. 123.

bei Gegenwart von sekundärem Kaliumphosphat. Eine geeignete Nährlösung war demnach unter Verwendung von Nitrit als N-Quelle zu erzielen, wenn diese die Zusammensetzung von

0,05% KNO_2
0,02% K_2HPO_4
0,01% $MgSO_4$
Spur $CaSO_4$ und $Fe_2(PO_4)_2$ in doppelt dest. Wasser hatte.

In dieser Lösung wachsen neben der Oscillaria tenuis auch die anderen in Reinkultur gewonnenen Arten gut.

Aus Pringsheims Versuchen geht demnach hervor, daß Nitrate, Nitrite und Ammoniumverbindungen sich als geeignete Stickstoffquellen erweisen, aber unter einem gewissen Vorbehalt, was die Reaktion der Nährlösungen anbetrifft. Auf diesen Punkt wird später noch einmal zurückzukommen sein. Daß schwach alkalische Reaktion der Nährlösung von ganz bedeutender Wichtigkeit ist, betont schon Molisch[1]) in seiner zweiten Abhandlung über die Ernährung der Algen. Doch ist dabei die sonstige Zusammensetzung der Lösung, besonders die N-Quelle, zu berücksichtigen.

In letzter Zeit hat Boresch[2]) bei seinen Ergrünungsversuchen gelbgewordener Cyanophyceen gezeigt, daß sich außer Nitraten auch Ammoniumsalze und organische Stickstoffverbindungen, möglicherweise auch Nitrite eignen. Seine Versuche erstrecken sich jedoch nur auf das Wiederergrünen der Algen, deshalb ist es noch nicht erwiesen, in welcher Weise die von ihm verwendeten Stickstoffsalze das Wachstum der Blaualgen bei einer längeren Versuchsdauer beeinflussen. Auch Schindler[3]) benutzte bei seinen Versuchen, die sich auf den Farbenwechsel der Oscillarien bezogen, sowohl Nitrate als auch Ammoniumverbindungen, für die Kultur aber nur Nitrat.

Genauere Untersuchungen über N-Quellen, wie sie in Nitraten, Nitriten und Ammoniumsalzen vorliegen, und in welcher Weise sie das Wachstum mehr oder minder gut fördern, sind von meinem Kollegen Glade[4]) ausgeführt werden. Als Versuchsalgen dienten ihm verschiedene Arten der Gattung Cylindrospermum. Er kam zu dem Resultat, daß innerhalb derselben Gattung in einer und derselben Nährlösung mit einer bestimmten Stickstoffquelle, z. B. Calciumnitrat, das optimale Wachstum an bestimmte Konzentrationsstufen

---

[1]) H. Molisch, Die Ernährung der Algen (Süßwasseralgen). Okt. 1896. Sitzb. d. kais. Akad. d. W. in Wien. Math.-naturw. Kl. Bd. CV. Abt. I.

[2]) K. Boresch, Zur Physiol. d. Blaualgenfarbstoffe. Lotos LVIII. Prag 1910.

[3]) B. Schindler, Über den Farbenwechsel der Oscillarien. Abdruck aus der Zeitschrift für Botanik, 5. Jg. 1913. Heft 7.

[4]) R. Glade, Zur Kenntnis der Gattung Cylindrospermum. Beiträge z. Biologie d. Pflanzen Bd. XII. 1914. S. 318—326.

gebunden ist. So fand er, daß C. licheniforme forma typica am besten in der Konzentration von 0,1 % Calciumnitrat gedeiht, während C. licheniforme forma Lemmermanni das beste Wachstum bei 0,05% zeigt.

Wie wir in dieser kurzen Literaturübersicht gesehen haben, liegen verschiedene Fingerzeige und Angaben über geeignete Stickstoffquellen für Cyanophyceen-Arten vor. An diese galt es nun bei der Bestimmung der optimalen Konzentrationen in Stickstoffnährlösungen anzuknüpfen. Auch sollte untersucht werden, welches von den Stickstoff enthaltenden Salzen sich als beste N-Quelle erweist. Die zu prüfenden Stickstoffquellen waren in der Hauptsache Salze der Salpeter- und salpetrigen Säure, sowie Ammoniumverbindungen. Natürlich konnte ich nicht alle Stickstoffsalze zur Prüfung heranziehen, sondern immer nur eine Auswahl treffen, die sich hauptsächlich auf die für Nährlösungen gebräuchlichsten Verbindungen erstreckte. Zuerst will ich die Verwertbarkeit einiger Nitrate erörtern.

Kulturversuche in verschiedenen Calciumnitratkonzentrationen.

Die Versuche wurden unter Beobachtung aller Vorsichtsmaßregeln und mit peinlichster Sauberkeit ausgeführt. Vor allem mußte streng darauf geachtet werden, daß Stickstoff enthaltende Verunreinigungen vermieden wurden. In der Wahl der Kulturgefäße brauchte man dagegen nicht so große Vorsicht walten zu lassen. Ich benutzte Erlenmeyerkölbchen aus gewöhnlichem Glase, da etwaige gelöste mineralische Bestandteile auf die Stickstoffkonzentrationen nicht störend einwirken konnten. Die Nährlösung bestand aus:

1) 0,5% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4 + 7\,H_2O$ +
2) 0,25% = = = Spuren $Fe_2(PO_4)_2$ +
3) 0,1% = = = $CaSO_4$ in dopp. dest.
4) 0,075% = = = Wasser.
5) 0,05% = = =
6) 0,025% = = =
7) 0,01% = = =
8) Kein Stickstoff = = =

Calciumsulfat, das ich mir aus dem von Kahlbaum bezogenen garantiert reinsten Calciumnitrat hergestellt hatte, wurde der Nährlösung in Form von einigen Tropfen einer in doppelt dest. Wasser hergestellten Aufschlämmung zugefügt. Da meine Cyanophyceen Calcium benötigen, so hielt ich die Hinzufügung dieser geringen Mengen von Calciumsulfat in den Lösungen, in denen das Calcium gleichzeitig mit dem Stickstoff bis auf das Minimum abgestuft wurde, für geboten. In die Lösungen 1 bis 8 impfte ich folgende in Kultur gut wachsende Cyanophyceen-

Arten: Oscillaria brevis und O. tenuis, Nostoc spec., Cylindrospermum licheniforme forma typica und Calothrix stellaris. Das Impfmaterial stammte aus Petrischalen, in denen die Cyanophyceen auf der schon früher erwähnten Kieselsäuregallerte mit Erfolg kultiviert wurden. Zum Teil konnte ich für meine Versuche auch einige bakterienfreie Reinkulturen verwenden. An solchen lagen Oscillaria tenuis und Nostoc spec. vor.

Beginn des Versuches am 24. April 1913. Ende am 7. Juni 1913. Im folgenden habe ich mich bemüht, die Veränderungen, die sich in den Kulturen vom Tage der Impfung an bemerkbar machen, in Abständen aufzuzeichnen. So deutet die Ausbreitung der Fäden auf das Wohlbefinden der Alge und die Eignung der Lösung hin, während eine Zusammenballung der Impfmasse auf schädliche Wirkungen z. B. auf saure Reaktion der Nährlösung hinweist. Im wesentlichen habe ich mich den Bezeichnungen Pringsheims[1]) angeschlossen, der sie ausführlich in dem Kapitel über „Entwicklung und Habitus der Kulturen“ beschrieben hat.

Nach vier Tagen, am 28. April, hatten die Oscillarien und Nostoc ihre Fäden in den Lösungen 3 bis 6 gut ausgebreitet, in 2 und 7 waren sie nur ganz fein auseinandergekrochen, und in 8 haftete das Impfklümpchen noch nicht an der Glaswand. Cylindrospermum licheniforme zeigte nur in 3 bis 5 eine Ausbreitung der Fäden, während in allen übrigen Lösungen noch keine Veränderung zu bemerken war. Die langsam wachsende Calothrix hatte sich in allen Lösungen noch nicht verändert. Die Impfklümpchen lagen am Boden der Kölbchen.

Am 12. Mai zeigten die Oscillarien in 3 bis 5 die beste Entwicklung. Kultur 5 war weniger gewachsen; 1, 2, 6 und 7 bildeten schwache Überzüge, in 8 hatten sich die Oscillarien zwar ausgebreitet, doch hatte bis jetzt keine sichtliche Vermehrung der Fäden stattgefunden. — Nostoc sah am besten in 4 und 5 aus, im übrigen verhielt sich das Wachstum ähnlich dem der Oscillarien. In 8 war keine Entwicklung festzustellen, nur einige schon etwas gelb aussehende Fäden durchzogen die Nährflüssigkeit.

Cylindrospermum licheniforme hatte die stärkste Vermehrung in 3 und 4 erfahren, in 1, 7 und 8 war kein Wachstum zu erkennen, während in 2, 5 und 6 sich schwächere Algenüberzüge gebildet hatten. Calothrix stellaris hatte sich am besten in Lösung 6 entwickelt. Beide Kölbchen zeigten auf der Oberfläche der Kulturflüssigkeit eine zarte Haut, in die viele kleine Algencentren sternförmig verteilt erschienen. Die Impfklümpchen in den übrigen Lösungen waren noch schön grün, ließen aber bis jetzt keinen Fortschritt in ihrem Wachstum erkennen.

Wie man hieraus ersehen kann, zeigt jede Art in den Konzentrationsreihen auf einer bestimmten Stufe ihre beste Entwicklung.

Am 7. Juni, nach 1½ monatlicher Versuchsdauer, wurde wieder kontrolliert. Oscillaria brevis und O. tenuis waren in den Kulturen 1, die 0,5%

---

[1]) E. G. Pringsheim, Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. III. Beiträge z. Biologie d. Pflanzen Bd. XII. 1913. S. 64.

Calciumnitrat enthielten, nur mäßig gewachsen. Einige Fäden durchzogen die Nährlösung. Bei Anwesenheit von 0,25% $Ca(NO_3)_2$ hatten sich in den Lösungen 2 gute Algenüberzüge gebildet, die aber weit hinter den Kulturen in 3 und 4 zurückblieben. Diese fielen durch ihr üppiges Wachstum sogleich ins Auge. Dicke Algenmassen überzogen die Kulturflüssigkeit, zum Teil waren die Fäden an der Glaswand hinaufgeklettert und zogen das Wasser kapillar nach sich, zum Teil bedeckten sie auch den Boden der Kölbchen. Was die Menge des Algenmaterials betraf, so wurden diese Kulturen von keiner anderen übertroffen, höchstens in Lösung 5 noch annähernd erreicht. In der Kultur 6 machte sich dagegen eine deutliche Abnahme der Algenmasse bemerkbar. Das Netz war dünner und zarter, und die Fäden hatten ein gelbes Aussehen bekommen. Kultur 7 hatte fast gar kein Wachstum hervorgebracht, die wenigen Fäden sahen vollkommen gelb aus, und ohne Stickstoff [8] war überhaupt keine Entwicklung eingetreten. Nur ganz wenige krankhaft aussehende Fäden schwammen in der Nährlösung. Die Mehrzahl der Fäden war farblos geworden und abgestorben.

Wie wir gesehen haben, war die reichlichste Algenentwickelung bei Oscillarien in Lösung 3 und 4 bei einem Stickstoffgehalt von 0,1% und 0,075% $Ca(NO_3)_2$ zu finden. Diese Konzentrationstufen sind somit die geeignetsten und als optimale Konzentrationen für diese Arten anzusehen.

Nostoc spec. hatte sich in den Kulturen 1 und 2 gar nicht entwickelt, in 3 und 4 war auch nur ein spärlicher Algenüberzug entstanden, während in Kultur 5 beide Kölbchen dicke Häute auf der Nährflüssigkeit aufwiesen. Kultur 6 zeigte auch noch gutes Wachstum, blieb aber hinter 5 erheblich zurück. 7 wies sehr schwaches Wachstum auf, und 8 war vollständig leer geblieben. Die übergeimpften Fäden waren nicht gewachsen und farblos geworden.

Aus dem Dargelegten geht hervor, daß sich Nostoc am besten in Lösung 5 bei einem Gehalt von 0,05% $Ca(NO_3)_2$ entwickelt hat. Diese Art ist demnach etwas anspruchsloser als die Oscillarien, da sie etwas weniger Stickstoff zu ihrer Entwicklung braucht.

Noch anspruchsloser ist Calothrix stellaris. Das beste Wachstum erhielt ich schon bei 0,025% Calciumnitrat in Lösung 6.

Annähernd gleiches Wachstum zeigten die Kulturen 5 und 7, während die stärkeren Konzentrationen 1, 2 und 3 gar kein Wachstum aufwiesen. Auch in Lösung 4 war dasselbe noch schwach.

Daß in den stärksten Konzentrationen kein Wachstum stattgefunden hat, liegt offenbar daran, daß eine höhere Konzentration wieder hemmend auf das Wachstum wirkt. Während die Oscillarien innerhalb der Reihe etwas höhere Konzentrationsstufen bevorzugen, ist dies bei Calothrix stellaris nicht der Fall. Trotz der geringen Stickstoffmengen, mit denen sich diese Art begnügt, erzielte ich reichliches Wachstum. Ohne Stickstoff wurde auch bei dieser Art nirgends Wachstum beobachtet, aber die Impfklümpchen erhielten sich regelmäßig über zwei Monate lang schön grün, während die Oscillarien und die anderen Arten längst farblos geworden waren. Die Erhaltung der grünen Farbe

deutet wiederum darauf hin, daß diese Art sehr wenig Stickstoff beansprucht. Damit stimmt überein, daß Calothrix stellaris bei Abwesenheit von Stickstoff lange Zeit am Leben bleibt und nicht abstirbt. Erst nach sehr langer Zeit macht sich der Stickstoffmangel auch bei ihr durch die gelbe Farbe bemerkbar.

Cylindrospermum licheniforme endlich unterscheidet sich in diesem Punkte nicht von den Oscillarien. Das beste Wachstum erzielte ich in Lösung 3, in der der Nitratgehalt 0,1% betrug.

Die Kulturen 2 und 4 waren auch noch gut, doch zeigten sie bereits eine geringere Entwicklung. 5 und 6 waren nur wenig gewachsen, 1, 7 und 8 waren überhaupt unverändert geblieben.

Wir haben gesehen, daß das optimale Wachstum für Oscillaria brevis, O. tenuis und Cylindrospermum licheniforme bei 0,1% beziehungsweise bei 0,075% Calciumnitratgehalt stattfindet, während Nostoc eine etwas niedrigere Konzentration 0,05% $Ca(NO_3)_2$ bevorzugt, und Calothrix stellaris gar erst in einer Konzentration von 0,025% $Ca(NO_3)_2$ sich am besten entwickelt. Eine erhebliche Steigerung der Konzentration wirkt dagegen hemmend auf das Wachstum, und eine starke Verminderung derselben hindert das Wachstum wegen eintretenden Stickstoffmangels. Bei Stickstoffausschluß ist bei allen Arten kein Wachstum möglich.

Äußerlich macht sich der Stickstoffmangel bei den Oscillarien, aber auch bei den anderen Arten durch eine allmähliche Verfärbung der grünen Fäden bemerkbar. Die Algen büßen ihre ursprüngliche Farbe ein und nehmen gelbe bis braune Farbentöne an. Dieser Prozeß kann schließlich so weit gehen, daß die Fäden verblassen und weiß werden. Das die gelben Fäden aber noch am Leben sind, beweist folgender Versuch. Fügt man nämlich den Kulturen frische Calciumnitratlösung hinzu, so ergrünen die Algen schon nach einigen Tagen wieder und nehmen ihre ursprüngliche Färbung an. Noch deutlicher wirken ein paar Körnchen festes Ammoniummagnesiumphosphat, das die Bedeutung des gebundenen Stickstoffs für das Zustandekommen der grünen Farbe sehr schön veranschaulicht. Ammoniummagnesiumphosphat ist sehr schwer löslich, und nur geringe Mengen diffundieren in die Nährlösung. Beim Hineinschütten einer Spur dieses Salzes in die Kölbchen bleiben die Körnchen gewöhnlich längere Zeit auf dem gelben Algennetz liegen. Nach einiger Zeit bilden sich an den Stellen, wo das Salz auf den Fäden liegt, kleine, grüne Kreise, die sich in dem Maße, in dem das stickstoffführende Salz in Lösung geht, vergrößern nnd schließlich sich über die ganze Haut ausdehnen. Ist aber der Stickstoff wieder aufgebraucht, dann macht sich alsbald die gelbe Farbe der Fäden wieder bemerkbar. Durch Darreichung von neuem Stickstoffsalz kann man die gelbe Farbe wieder rückgängig machen und den Farbenwechsel beliebig oft wiederholen.

Angesetzt am 24. April 1913. **Versuch 1.** Ergebnis am 7. Juni 1913.

Bestimmung des optimalen Wachstums in verschiedenen $Ca(NO_3)_2$-Konzentrationen.

Stammnährlösung: 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4$ + 7 H_2O + Spur $CaSO_4$ und $Fe_2(PO_4)_2$ in dopp. dest. H_2O.

Konzentration	Lösung 1. 0,5% $Ca(NO_3)_2$	Lösung 2. 0,25% $Ca(NO_3)_2$	Lösung 3. 0,01% $Ca(NO_3)_2$	Lösung 4. 0,075% $Ca(NO_3)_2$	Lösung 5. 0,05% $Ca(NO_3)_2$	Lösung 6. 0,025% $Ca(NO_3)_2$	Lösung 7. 0,01% $Ca(NO_3)_2$	Lösung 8. Stickstoffrei.
Oscillaria brevis aus Petrischale auf Kieselsäuregall. vom 16. 3. 1913.	Mäßig gewachsen, nur wenige Fäden entwickelt.	Guter Überzug auf der Nährflüssigkeit.	Sehr dicke Haut, **beste Kultur.**	Sehr dicke Haut, wie in 3.	Auch noch starke Haut, aber weniger.	Zartes Netz, die Fäden sind gelb geworden.	Sehr zartes Netz, gelb, kaum gewachsen.	Gar nicht gewachsen. Fäden weiß, tot.
Oscillaria tenuis, Reinkultur aus Heydenagarröhrchen vom 13. 3. 1913.	Mäßig gewachsen, wenig Fäden.	Schon ausgedehntes Algennetz.	Sehr dichtes Netz, **beste Kultur.**	Dichtes Netz, kein erheblicher Unterschied zwischen 3 u. 4.	Netz etwas dünner als bei 4.	Dünnes Netz, gelblich aussehend.	Wenig gewachsen, einige Fäden farblos.	Gar nicht gewachsen, Fäden farblos.
Nostoc spec., Reinkultur aus Heydenagarröhrchen vom 3. 3. 1913.	Kaum gewachsen.	Nur wenig gewachsen.	Leidliches Algennetz.	Ungefähr wie in 3, eine Kultur etwas mehr gewachsen.	Dickes Algennetz in beiden Kulturen, **bestes Wachstum.**	Auch gut gewachsen, aber weniger als in 5. Fäden am Rande des Netzes gelb.	Sehr zartes Netz, sieht gelb aus.	Nicht gewachsen, Impfklümpchen gelb.
Calothrix stellaris aus Petrischale vom 16. 3. 1913.	Impfklümpchen nicht gewachsen.	Impfklümpchen kaum vermehrt.	Zartes Häutchen auf der Oberfläche.	Zartes Häutchen wie in 3.	Weiter gewachsen, hübsche Haut.	Sehr dicke Haut mit vielen dunkelgrünen Algencentren, **bestes Wachstum.**	Hübsches Netz, etwa wie in 4.	Impfklümpchen nicht gewachsen, aber noch schön grün.
Cylindrospermum licheniforme aus Petrischale vom 16. 3. 1913.	Impfklümpchen sieht schlecht aus.	Etwas vermehrt, sieht gut aus.	Sehr schöne Haut, **beste Kultur.**	Sehr schöne Haut.	Auch gut gewachsen, aber weniger Algenmenge als bei 4.	Wenig gewachsen, sehr kleine Algenmenge.	Nicht gewachsen, Impfklümpchen farblos.	Nicht gewachsen, die Alge ist farblos geworden.

Während ich mich mit der Erscheinung der Farbenänderung bei Cyanophyceen beschäftigte, erschien zu derselben Zeit eine Arbeit von Magnus und Schindler[1]), die von dem Einfluß der Nährsalze auf Oscillarien handelte. Die Verfasser weisen nach, daß die Gelbfärbung der Blaualgen auf zu geringem Stickstoffgehalt der Nährlösung beruht. Reichliche Stickstoffzufuhr bedingt das Auftreten der ursprünglichen grünen Farbe, auch ist es gleich, ob die hinzugefügte N-Quelle als Nitrat oder Ammonsalz vorliegt. Die ökologische Bedeutung der Gelbfärbung soll in der Abnahme der für die Assimilation wirksamen Farbstoffe zu suchen sein, damit die Algen vor schweren ernährungsphysiologischen Störungen bewahrt bleiben.

Außer diesen beiden Autoren ist noch K. Boresch[2]) zu nennen, der eingehende Studien mit der Blaualge, Phormidium corium, angestellt hat. Er beobachtete ebenfalls bei Stickstoffmangel eine Braun- bis Gelbfärbung, die sich bei erneuter Darreichung von Stickstoffverbindungen als rückgängig erwies. — Alle diese Angaben der eben genannten Autoren habe ich durch eigene Versuche bestätigt gefunden.

Bestimmung des optimalen Wachstums in verschiedenen Kaliumnitrat-Konzentrationen.

Die Versuche wurden in derselben Weise ausgeführt, wie die mit den vorhin besprochenen Calciumnitrat-Konzentrationen. Die Nährlösung bestand aus:

1) 0,5% KNO_3 + 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4 + 7H_2O$ + Spuren $CaSO_4$
2) 0,1% = = = und $Fe_2(PO_4)_2$ in dopp.
3) 0,05% = = = dest. Wasser.
4) 0,025% = = =
5) 0,01% = = =
6) Kein Stickstoff = =

Zum Versuche wurden sämtliche von mir kultivierten Arten herangezogen: Oscillaria brevis, O. tenuis und Nostoc spec. aus Reinkultur, Calothrix stellaris und Cylindrospermum licheniforme.

Beginn des Versuches am 29. Januar 1913. Ende am 13. März 1913.

Am 3. Februar waren die Oscillarien, Nostoc und Cylindrospermum in den Lösungen 3 bis 5 gut auseinander gekrochen, und die Fäden hafteten bereits an der Glaswand. In den übrigen Kulturen waren die Impfklümpchen in der Nährflüssigkeit untergesunken und lagen lose am Boden der Gefäße, Calothrix stellaris hatte sich in allen Lösungen noch nicht verändert.

Am 21. Februar hatten sich die Oscillarien in den Lösungen 4 und 5 bereits kräftig vermehrt. In sämtlichen Kölbchen hatte sich an der Glas-

[1]) Magnus und Schindler, Über den Einfluß der Nährsalze auf die Oscillarien. Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1912. Bd. 30. S. 314.

[2]) K. Boresch, Zur Physiologie der Blaualgenfarbstoffe. Lotos LVIII. Prag 1910.

wand nach der Fensterseite hin ein schöner Belag gebildet. Die zahlreichen Blasen, die von den Algenfäden festgehalten wurden, deuteten auf einen reichlichen Gasaustausch hin. Kultur 3 war bis jetzt wenig gewachsen, 2 zeigte nur eine schwache Ausbreitung der Fäden, während 1 und 6 bereits eingegangen waren. Bei 1 war offenbar die Konzentration zu hoch, und Kultur 6 konnte sich infolge des Stickstoffmangels nicht entwickeln. Diese Kulturen wurden der Sicherheit wegen noch einmal geimpft. — In der Hauptsache schließen sich die übrigen Arten den Oscillarien an. Sie unterscheiden sich von ihnen dadurch, daß sie auf die schwächste Konzentration [5] angewiesen sind, da nur in dieser eine gute Vermehrung der Algensubstanz stattgefunden hat, während das Wachstum in den nächst höheren Konzentrationen schon als mäßig bezeichnet werden muß.

Am 13. März, nach 1½ monatlicher Versuchsdauer, war das Ergebnis bei den einzelnen Arten folgendes: Oscillaria brevis war am besten in Lösung 4 gewachsen bei einem Kaliumnitratgehalt von 0,025%.

Ohne Stickstoff war, wie schon bei den Calciumnitratversuchen erwähnt wurde, kein Wachstum möglich.

Die Kulturen in 3 und 5 waren ungefähr gleich gut gewachsen, doch blieb die erzeugte Algenmasse hinter 4 deutlich zurück, und in den Lösungen, die sich der stärksten Konzentration näherten, war eine gleichmäßig fortschreitende Abnahme der Entwicklung zu konstatieren. Lösung 1 zeigte auch nach dem Wiederimpfen krankhaft aussehende Fäden. Die Konzentration ist zu hoch, um eine gedeihliche Vermehrung zu gestatten.

Mit Oscillaria tenuis erhielt ich die besten Kulturen in Lösung 5 bei einem Gehalt von 0,01% Kaliumnitrat. Aber eine Vermehrung hatte seit dem 21. Februar in dieser Kultur kaum noch stattgefunden. Im Gegenteil, das Wachstum war nach einer anfänglich vorzüglichen Entwicklung auf dieser Stufe stehen geblieben. Teilweise hatten die Fäden begonnen sich zu verfärben, und die Kultur machte einen krankhaften Eindruck. Diese Art ist empfindlicher gegen höhere Konzentrationen als Oscillaria brevis, was schon daraus hervorgeht, daß sie in den nächst höheren Konzentrationen nicht so üppig gewachsen ist wie die eben genannte Art. Der Oscillaria tenuis sind die Nostoc spec. und Cylindrospermum licheniforme gleich zu stellen. Aus den mehrmals hintereinander angesetzten Versuchen ging mit Bestimmtheit hervor, daß in der schwächsten Konzentration [5] anfangs immer das beste Wachstum erhalten wurde. Ein Anwachsen der Konzentration nach oben erwies sich jedesmal als schädlich. — Aber auch bei diesen Arten machte sich dieselbe Erscheinung geltend wie bei Oscillaria tenuis. Nachdem dieselben in den niedrigen Konzentrationen bis zum 21. Februar gutes Wachstum gezeigt hatten, hörte es ungefähr drei Wochen nachdem geimpft worden war, auf. Die Nostocfäden ballten sich zusammen und bildeten am Boden der Kölbchen eine Kugel. In diesem Zustande beharrte diese Art

einige Wochen lang, dann wurde das Ganze gelblich und starb allmählich ab. Bei Cylindrospermum licheniforme ging der Prozeß des Absterbens wesentlich schneller vor sich. Das grüne Algennetz nahm anfänglich hellere Farbentöne an, bis es schließlich, allerdings nach sehr langer Zeit, ganz farblos wurde, und der Tod eintrat. Man könnte nun einwenden, daß auch hier Stickstoffmangel die Ursache sei, die eine Verfärbung der Algenfäden bedinge und dann das Wachstum hemme. Dies ist aber hier nicht der Fall; denn die Kulturen blieben dauernd geschädigt auch bei Hinzugabe von neuem Stickstoffsalz. Eine Erklärung hierfür wird unten gegeben werden.

Auch die letzte Art, Calothrix stellaris, hielt sich mit ihrem Optimum in der Nähe der unteren Grenze bei einem Kaliumnitratgehalt von 0,025% und 0,01%. Nur einmal wurde in einem Kölbchen in einer etwas höheren Konzentration bei 0,05% KNO_3 noch gutes Wachstum festgestellt. Der Fall blieb aber vereinzelt. Immerhin ist der Unterschied in der Konzentrationsreihe von 0,05% bis 0,01% nicht sehr groß, auch gelingt es nicht immer, ganz scharfe Grenzen zu ziehen.

In der Hauptsache haben wir gesehen, daß fast sämtliche zu unserem Versuche herangezogenen Algen sich am besten in der niedrigsten Konzentration (0,01% KNO_3) entwickelt haben. Diese Tatsache steht in einem schroffen Gegensatze zu dem Verhalten der Blaualgen in Calciumnitratlösungen. Hier wurden im wesentlichen die höheren Konzentrationen (0,1% $Ca(NO_3)_2$) von meinen Cyanophyceen bevorzugt. Eine Erklärung gibt Pringsheim[1]) in seiner Arbeit „Zur Physiologie der Schizophyceen“. Der Verfasser meint, daß die Verwertbarkeit der Nitrate von der Beschaffenheit des Kations abhängig sei. Ist in der Nährlösung das Nitratanion aufgebraucht worden, so verbindet sich das Kation mit der Kohlensäure der Luft entweder zu unlöslichem oder zu dissoziiertem Karbonat. Wenn der letztere Fall eingetreten ist, dann wird die Nährlösung stärker alkalisch als die Algen vertragen können. Oscillaria tenuis verträgt nun zwar etwas Basicität, bei weiterem Wachstum macht sie aber die Kaliumnitratlösung stärker alkalisch und geht nach anfänglich guter Vermehrung ein, während Oscillaria brevis ziemlich unempfindlich gegen die Reaktion der Lösung ist. Diese Deutung findet nicht nur auch durch meine Versuche in verschiedenen KNO_3-Konzentrationen für Oscillaria tenuis eine Stütze, sondern ich bin in der Lage noch zwei weitere Fälle anzuführen.

Oben haben wir gesehen, daß nach anfänglich gutem Wachstum Nostoc und Cylindrospermum licheniforme anfingen zu kränkeln und einzugehen. Eine Untersuchung der Nährlösung mit Neutralrot als

---

[1]) E. G. Pringsheim, Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. (III. Mitteilung.) Diese Beiträge. Bd. XII. 1913. S. 75.

Angesetzt am 29. Januar 1913. **Versuch 2.** Ende am 13. März 1913.

Bestimmung des optimalen Wachstums in verschiedenen KNO_3-Konzentrationen.

Stammnährlösung: 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4$ + $7H_2O$ + Spur $CaSO_4$ und $Fe_2(PO_4)_2$ in dopp. dest. Wasser.

Konzentration	Datum	Lösung 1. 0,5% KNO_3	Lösung 2. 0,1% KNO_3	Lösung 3. 0,05% KNO_3	Lösung 4. 0,025% KNO_3	Lösung 5. 0,01% KNO_3	Lösung 6. Stickstoffrei.
Oscillaria brevis aus Petrischale vom 3. 12. 1912.	21. 2.	Eingegangen, wiedergeimpft.	Fäden ausgebreitet, etwas vermehrt.	Zarte Haut, wenig gewachsen.	An der Fensterseite schöner Belag.	Schöner Belag wie in 4.	Eingegangen, wiedergeimpft
	13. 3.	Nicht gewachsen.	Minimales Wachstum.	Hübsche Haut und Belag an der Glaswand.	Sehr dicker Randbelag, **beste Kultur.**	Auch gut gewachsen, dicker Belag, etwas weniger.	Nicht gewachsen.
Oscillaria tenuis aus Petrischale vom 3. 12. 1912.	21. 2.	Nicht gewachsen, wiedergeimpft.	Fäden ausgebreitet, nicht viel gewachsen.	Noch nicht viel vermehrt.	Zarte Haut nach der Fensterseite, sieht gut aus.	Dicker Randbelag, **beste Kultur.**	Nicht gewachsen.
	13. 3.	Nicht gewachsen	Kaum gewachsen.	Nicht weiter gewachsen	Nicht weiter gewachsen, sieht krank aus.	Dicke Algenmassen, aber nicht weit. verm., kränkl.	—
Nostoc spec. aus Petrischale vom 3. 12. 1912.	21. 2.	Noch grün.	Fäden ausgebreitet, nicht viel gewachsen.	Die Fäden vereinigen sich zu Kugeln.	In beiden Kölbchen schöner Randbelag, gut gewachsen.	Sehr schöner Belag, **sieht am besten aus.**	Noch grün, aber nicht gewachsen.
	13. 3.	Nicht gewachsen.	Etwas vermehrt.	Nicht mehr gewachsen.	Die Fäden haben sich zu einer Kugel zusammengeballt.	Nicht mehr gewachsen, dicker Klumpen, Fäden werden gelb.	—
Cylindrospermum licheniforme aus Petrischale vom 3. 12. 1912.	21. 2.	Abgestorben, wiedergeimpft.	Farbl. Algenm., wiedergeimpft.	Kl. Hof um das Impfklümpchen.	Schöne Haut, gut gewachsen.	Noch größer als in 4, **beste Kultur.**	Farblos, wiedergeimpft.
	13. 3.	Tot.	Tot.	Nicht weiter gewachsen.	Kaum verm., d. Kulturen büßen ihre Farbe ein.	Nicht weiter gew. Einige Fäden werden hellgelb.	Eingegangen.
Calothrix stellaris aus Petrischale vom 14. 11. 1912.	21. 2.	Noch grün.	Impfklümpchen kaum vermehrt.	Schwaches Häutchen.	Zarte Haut, nicht viel mehr als in 3.	Schöne Haut u. Bodenüberzug, **beste Kultur.**	Impfklümpchen noch grün.
	13. 3.	Gelb.	Schwache Haut, gelblich.	1. Kultur schwache Haut, 2. dichter Überzug.	Zarte Haut, nicht viel vermehrt, sieht gut aus.	Nicht mehr gewachsen, sieht aber noch gut aus.	Gelblich grün.

Indikator deutete auf Alkalität hin, die in einigen Fällen die von 0,02% K_2HPO_4 an Stärke übertraf. So dürfte es zusammenhängen, daß diese Arten bei Anwesenheit von Kaliumnitrat nur innerhalb enger Grenzkonzentrationen wachsen können, während das „physiologisch neutrale" Calciumnitrat nach Pringsheims Ansicht und nach meinen vorliegenden Erfahrungen bedeutend günstiger auf das Wachstum einwirkt.

Bestimmung des optimalen Wachstums in verschiedenen Kaliumnitritkonzentrationen.

Den Nachweis, daß in Nitritversuchen die Blaualgen tatsächlich das NO_2' als Stickstoffquelle zum Aufbau der Körpersubstanz gewinnbringend verwerten können, hatte schon Pringsheim, wie ich oben erwähnte, bei Oscillaria tenuis geführt. Er benutzte das Kaliumsalz der salpetrigen Säure bei schwach basischer Reaktion und Anwesenheit von Calciumsalzen mit gutem Erfolg.

Neben Pringsheim ist noch Boresch[1]) zu nennen, der sich bei den Ergrünungsversuchen gelb gewordener Cyanophyceen sowohl des Kalium- als auch des Natriumnitrits bediente. Doch sind die Versuche, da die Nitrite geringe Spuren Nitrat enthielten, nur mit einem gewissen Vorbehalt aufzunehmen. Sonst sind mir in der Literatur keine weiteren Fälle bekannt, wo das Nitrit als N-Quelle mit Erfolg bei Algenkulturen zur Verwendung gelangte.

Schon früher, ehe ich zu der systematischen Durchführung der einzelnen Kaliumnitritkonzentrationen schritt, war mir aufgefallen, daß Oscillaria tenuis in gelegentlich angesetzten Kaliumnitritkulturen recht gut gedieh. In einer 0,01% Kaliumnitritlösung wuchs diese Art einen Monat lang ausgezeichnet, und ich kam zu dem Schluß, Kaliumnitrit als annehmbare N-Quelle für diese Blaualge hinzustellen. Ob sich die anderen Arten genau so verhalten würden, war mir damals noch nicht bekannt, und ich hielt es für nicht uninteressant, der Frage näher auf den Grund zu gehen.

Am 15. Juli 1913 wurden sämtliche Arten in folgende Nährlösungen geimpft.

1) 0,5% KNO_2 + 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4 + 7H_2O$ + Spur $CaSO_4$
2) 0,1% " " " und $Fe_2(PO_4)_2$ in dopp.
3) 0,05% " " " dest. Wasser.
4) 0,025% " " "
5) 0,01% " " "
6) Kein Stickstoff " "

[1]) K. Boresch, Zur Physiologie der Blaualgenfarbstoffe. Lotos LVIII. Prag 1910. S. 170.

Von meinen Arten lagen Oscillaria tenuis und Nostoc spec. in Reinkultur vor, O. brevis, Cylindrospermum licheniforme und Calothrix stellaris waren nur speziesrein. Das Ergebnis war am 17. August, ungefähr nach einem Monat, folgendes.

Oscillaria brevis und O. tenuis waren in den Lösungen 5 bei 0,01% Nitritgehalt am besten gewachsen.

Auf der Oberfläche der Kulturflüssigkeit schwammen dicke Netze. Die Kulturen 3 und 4 waren auch gut gewachsen, doch erreichte die erzeugte Algenmenge bei weitem nicht mehr die in Kultur 5. Die übrigen Kulturen dagegen waren bei stetiger Zunahme der Konzentration schlecht gewachsen. Meine frühere Erfahrung, daß O. tenuis bei geringer Anwesenheit von Nitrit gut wuchs, konnte ich nun auch auf O. brevis ausdehnen. Gleichaltrige Kulturen, die zur Kontrolle Kaliumnitrat enthielten, unterschieden sich nicht von Nitritkulturen.

Ganz anders verhielten sich aber Nostoc und die übrigen Arten. Nur in der niedrigsten Konzentration [5] war noch leidliches Wachstum vorhanden, in der nächst höheren aber hatten sich die Fäden zum Teil zusammengeballt. Wenige spärliche Algenstränge durchzogen die Nährlösung, ohne daß rechtes Wachstum zu konstatieren war. Die Algen bekamen bald gelbes Aussehen und kränkelten.

Auch Cylindrospermum licheniforme entwickelte sich nur mäßig in der niedrigsten Konzentration (0,01%). Die anderen Kulturen in stärkerer Nitritlösung gingen ein und zeigten kein oder sehr spärliches Wachstum. Etwas besser gedieh Calothrix stellaris. Die beste Kultur erhielt ich aber auch nur bei 0,01% Kaliumnitritgehalt, während die übrigen Kölbchen geringes Wachstum zeigten.

Das Resultat ist daraufhin so zusammen zu fassen, daß Kaliumnitrit, in sehr geringer Konzentration (0,01%) angewandt, für Oscillarien als gute N-Quelle dienen kann, daß es sich aber für meine übrigen Arten als ungünstig erwiesen hat.

Ammoniumverbindungen.

Bisher war der Stickstoff in den Nitrat- und Nitritversuchen als Anion dargeboten worden, und es hatte sich herausgestellt, daß die einzelnen Verbindungen einen verschiedenen Grad der Giftigkeit an den Tag legten. Im folgenden wird es nun meine Aufgabe sein, auch einige Ammoniumsalze daraufhin zu untersuchen und in ihren Lösungen die Wachstumsgrenzen festzustellen. Die Verwendbarkeit des Ammonstickstoffs hat sich nicht nur für Grünalgen, sondern auch für Cyanophyceen ergeben. Ich erinnere vor allem an die schon oben erwähnten unter Stickstoffquellen angeführten Versuche von Pringsheim, wo verschiedene Ammoniumverbindungen erfolgreich für Blaualgenkulturen verwertet wurden, während Boresch und Schindler Ammoniumsalze nur bei den Ergrünungsversuchen gelbgewordener Cyanophyceen benutzten.

Versuch 3.

Angesetzt am 15. Juli 1913. — Ergebnis vom 17. August 1913.

Bestimmung des optimalen Wachstums in verschiedenen Kaliumnitritkonzentrationen.

Stammnährlösung: 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4$ + $7H_2O$ + Spur $CaSO_4$ und $Fe_2(PO_4)_2$ in dopp. dest. Wasser.

Konzentration.	Lösung 1. 0,5% KNO_2	Lösung 2. 0,1% KNO_2	Lösung 3. 0,05% KNO_2	Lösung 4. 0,025% KNO_2	Lösung 5. 0,01% KNO_2	Lösung 6. 0 KNO_2
Oscillaria brevis aus Petrischale auf Kieselsäuregel. vom 12. 6. 1913.	Nicht gewachsen, Impfklümpchen gelb.	Sehr zartes Netz.	Schöne Haut.	Haut noch größer als in 3.	Sehr dicke Haut, **beste Kultur.**	Gelbliche Fäden, nicht gewachsen.
Oscillaria tenuis, Reinkultur aus Heydenagarröhrchen vom 6. 6. 1913.	Nicht gewachsen.	An der Fensterseite zarter Belag.	Wie in 2, aber mehr gewachsen.	Dichtes Netz, gut gewachsen.	Sehr dichtes Netz, **sehr gut gewachsen.**	1. Schwach vermehrt, 2. Fäden nicht gewachsen.
Nostoc spec., Reinkultur aus Heydenagarröhrchen vom 6. 6. 1913.	Die Fäden sehen gelb aus.	Nicht gewachsen.	Am Boden kleine grüne Stellen, aber kaum gewachsen.	Das gleiche Verhalten wie in 3, einzelne Fäden in der Lösung.	Etwas mehr gewachsen, im ganzen mäßiges Wachstum.	Nicht gewachsen.
Cylindrospermum licheniforme aus Petrischale vom 12. 6. 1913.	Die Fäden sind farblos geworden.	1. Nicht gewachsen. 2. Impfklümpchen noch grünlich.	Nicht gewachsen.	Wenig vermehrt.	1. Am Boden grüner Überzug. 2. An der Oberfläche kleines Netz.	Eingegangen.
Calothrix stellaris aus Petrischale vom 12. 6. 1913.	Impfklümpchen noch grünlich.	Wie in 1.	Impfklümpchen etwas vermehrt.	Zartes Häutchen.	Dichtes Häutchen, die meiste Algenmenge gebildet.	Noch grün, nicht gewachsen.

Bestimmung des optimalen Wachstums in Lösungen mit Ammoniumsulfat.

Die Nährlösungen bestanden aus:

1) 0,5% $(NH_4)_2SO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4 + 7H_2O$ + Spur $CaSO_4$
2) 0,1% " " " und $Fe_2(PO_4)_2$ in
3) 0,05% " " " dopp. dest. Wasser.
4) 0,025% " " "
5) 0,01% " " "
6) — " "

Am 12. Juli 1913 wurden alle Arten, die schon bei den früheren Stickstoffversuchen verwendet worden waren, in die Lösungen geimpft. Das Resultat war am 15. August, nachdem schon vorher zweimal protokolliert worden und die ausgebliebenen Kulturen frisch geimpft worden waren, folgendes: Das Wachstum war im allgemeinen in Ammoniumsulfatkulturen bei den Oscillarien leidlich, bei den übrigen Arten mäßig oder schlecht. Wie aus untenstehender Tabelle ersichtlich ist, hatten sich die Oscillarien am besten in Lösung 5 entwickelt. Was aber die erzeugte Algenmenge anbelangt, so war sie gering und stand in gar keinem Verhältnis zu Kalium- oder Calciumnitratkulturen. Die übrigen Kulturen hatten sich bei höherem Ammonsulfatgehalt kaum noch vermehrt, und das Wachstum war völlig zum Stillstand gekommen. Die Nostoc-Kulturen waren zum größten Teil noch schlechter gewachsen, nur bei Gegenwart von wenig Sulfat (0,01%) hatten die Fäden ein zartes Netz gebildet. Die Algenmengen waren durchweg gering. Auch Cylindrospermum licheniforme wuchs nur bei 0,25% und 0,01% Ammonsulfatgehalt, in den nächst stärkeren Konzentrationen war die Alge nicht gewachsen. Sie wurde farblos und starb bald ab. Sehr mäßiges Wachstum ließ Calothrix stellaris erkennen. Die Impfklümpchen waren zum Teil grün geblieben, zeigten aber nur geringe Vermehrung. In den beiden untersten Konzentrationen 0,025% und 0,01% waren sie etwas größer geworden, auch schwamm auf der Nährflüssigkeit ein zartes Häutchen.

Abgesehen von den Oscillarien, denen Ammonsulfat in schwacher Konzentration noch eine einigermaßen befriedigende Entwicklung gestattete, erwies sich dasselbe für die übrigen Arten durchaus ungeeignet. Wachstum wurde nur in Lösung 5 bei allen Arten erhalten, im Grunde genommen war dasselbe doch gering und kein gutes. Eine Untersuchung der Reaktion der Nährlösung ergab in den Kulturen, wo Wachstum stattgefunden hatte, schwache Acidität. Ist dieser Zustand erreicht, dann gehen die Kulturen nach anfänglichem Wachstum zu Grunde. Demnach kommt es bei der Verwertbarkeit des Ammoniumsulfats auf die physiologische Eignung des Säurerestes sehr an.

Versuch 4.

Angesetzt am 12. Juli 1913. — Nachgesehen am 15. August 1913.

Bestimmung des optimalen Wachstums in Lösungen mit Ammoniumsulfat.

Stammnährlösung: 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4$ + $7H_2O$ + Spur $CaSO_4$ und $Fe_2(PO_4)_2$ in dopp. dest. Wasser.

Konzentration.	Lösung 1. 0,5% $(NH_4)_2SO_4$	Lösung 2. 0,1% $(NH_4)_2SO_4$	Lösung 3. 0,05% $(NH_4)_2SO_4$	Lösung 4. 0,025% $(NH_4)_2SO_4$	Lösung 5. 0,01% $(NH_4)_2SO_4$	Lösung 6. 0 $(NH_4)_2SO_4$
Oscillaria brevis aus Petrischale vom 12. 6. 1913.	Fäden gelb.	Fäden auseinandergekrochen, nicht gewachsen.	Zarter Randbelag.	Ausgedehntes Häutchen auf der Oberfläche.	Stärkere Haut, **am meisten gewachsen.**	In einer Kultur etwas ausgebreitet, in der anderen tot.
Oscillaria tenuis, Reinkultur aus Heydenagarröhrchen vom 6. 6. 1913.	Fäden farblos.	Fäden zusammengeballt, kaum gewachsen.	Wie in 2, in einer Kultur vermehrt.	Etwas mehr als in 3, Fäden in dicken Klumpen.	Großer Klumpen, **größte Algenmenge.**	Fäden bleich.
Nostor spec., Reinkultur aus Heydenagarröhrchen vom 6. 6. 1913.	Zum 2. Male eingegangen.	Noch grün, nicht gewachsen.	Fäden am Boden kriechend, wenig gewachsen.	Wie in 3, außerdem grünes Rändchen in einer Kultur.	Grüner Bodenbelag, Algenmenge nicht sehr viel.	Abgestorben.
Cylindrospermum licheniforme aus Petrischale vom 12. 6. 1913.	Zum 2. Male eingegangen.	Noch grünlich, nicht gewachsen.	Impfklümpchen vermehrt.	Algenmenge größer als in 3, leidlich gewachsen.	Noch besser, gutes Wachstum, Algenmenge aber gering.	Sieht schlecht aus.
Calothrix stellaris aus Petrischale vom 12. 6. 1913.	Impfklümpchen gelblich.	Impfklümpchen kaum größer geworden.	Wachstum ist vorhanden gewesen, ruht aber.	Zarte Haut auf der Oberfläche.	Dichtere Haut, der Unterschied zwischen 4 und 5 ist aber nicht groß.	Impfklümpchen noch grün, nicht vermehrt.

Bestimmung der optimalen Konzentration von Ammoniumphosphatlösungen.

Die Nährlösung bestand aus:

1) 0,5% $(NH_4)_2HPO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4 + 7H_2O$ + Spur $CaSO_4$ und $Fe_2(PO_4)_2$ in dopp. dest. Wasser.
2) 0,1% " " "
3) 0,05% " " "
4) 0,025% " " "
5) 0,01% " " "
6) — " " "

Als Versuchsalgen dienten Oscillaria brevis, O. tenuis, Nostoc spec., Cylindrospermum licheniforme und Calothrix stellaris.

Am 27. Juni 1913 wurden die Lösungen geimpft. Das Impfmaterial stammte teils aus Petrischalen mit Kieselgall., in denen Oscillaria brevis, Cylindrospermum licheniforme und Calothrix stellaris speziesrein ge-züchtet wurden, teils aus Heydenagarröhren, in denen O. tenuis und Nostoc bakterienrein kultiviert worden waren. Das Versuchsergebnis war nach einem Monat, am 25. Juli, folgendes:

Oscillaria brevis hatte sich am besten in Lösung 2 und 3 entwickelt. Auf der Kulturflüssigkeit war in sämtlichen Kölbchen eine dicke, braungrüne Haut angelegt worden. In den übrigen Lösungen dagegen war nur mäßiges oder gar kein Wachstum zu konstatieren, sobald eine zu starke Verringerung oder eine Vermehrung des Stickstoffgehaltes stattfand.

Oscillaria tenuis war am besten bei einem Gehalt von 0,025% Ammoniumphosphat gediehen. Die Kulturen in den nächst höheren Konzentrationen 2 und 3 waren ganz bedeutend hinter denen von Oscillaria brevis zurückgeblieben. Auch hier trat die größere Anpassungsfähigkeit der letztgenannten Art an höhere Konzentrationen deutlich hervor.

Die übrigen Arten zeigten in ihrem Wachstum untereinander keine erheblichen Unterschiede. Alle bevorzugten eine niedrige Konzentration der Lösung und zeigten in derselben das beste Wachstum. So hatte Nostoc die größte Algenmenge in Lösung 4 und 5 erzeugt. Auch Cylindrospermum ließ in den Kulturen mit gleichem Stickstoffgehalt eine sehr gute Entwicklung erkennen. Calothrix stellaris endlich war am besten in Lösung 5 gewachsen bei Gegenwart von 0,01% Ammoniumphosphat. Die höheren Konzentrationen wiesen nur mäßiges oder gar kein Wachstum auf. Nach den erhaltenen Algenmengen zu urteilen, erweist sich das sekundäre Salz des Ammoniumphosphates für Blaualgenkulturen besonders günstig. Es ist an sich basisch. Auch sind die entstehenden primären Phosphate weniger ionisiert als primäre Sulfate.

Versuch 5.

Angesetzt am 27. Juni 1913. — Ergebnis am 25. Juli 1913.

Bestimmung der optimalen Konzentration von Ammoniumphosphatlösungen.

Stammnährlösung: 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4$ + $7H_2O$ + Spur $CaSO_4$ und $Fe_2(PO_4)_2$ in dopp. dest Wasser.

Konzentration.	Lösung 1. 0,5% $(NH_4)_2HPO_4$	Lösung 2, 0,1% $(NH_4)_2HPO_4$	Lösung 3. 0,05% $(NH_4)_2HPO_4$	Lösung 4. 0,025% $(NH_4)_2HPO_4$	Lösung 5. 0,01% $(NH_4)_2HPO_4$	Lösung 6. 0 $(NH_4)_2HPO_4$
Oscillaria brevis aus Petrischale auf Kieselsäuregel. vom 2. 6. 1913.	Fäden nur wenig auseinander gekrochen, nicht gewachsen.	Schöne dicke Haut, **beste Kultur.**	Dicke Haut, wie in 2.	Zartes Netz, an der Fensterseite stärker.	Wenig vermehrtes Netz, Fäden werden gelb.	Fäden ausgebreitet, aber kaum gewachsen.
Oscillaria tenuis, Reinkultur aus Heydenagar-röhrchen vom 26. 5. 1913.	Dichtes Klümpchen, kaum vermehrt.	Am Boden fein ausgebreiteter Überzug, wenig gewachsen.	Dicke grüne Kugeln, vermehrt.	Netz mit dichten Strängen, **beste Kultur.**	Dicke Algenmenge am Rande des Gefäßes, Algenmenge etwas weniger als in 4.	Nicht gewachsen.
Nostoc spec. Reinkultur aus Heydenagar-röhrchen vom 26. 5. 1913.	Impfklümpchen bleich geworden.	Grüne Stellen am Boden.	Mehr gewachsen, sonst wie in 2.	Dichtes Netz und Bodenüberzug, **beste Kultur.**	Dichtes Netz, etwas dünner, auch noch gut.	Impfklümpchen farblos.
Cylindrospermum licheniforme auf Kieselsäuregel. vom 2. 6. 1913.	Impfklümpchen sieht schlecht aus.	Um das Impfklümpchen neue Algenmenge, noch gering.	Schöne Haut um das Impfklümpchen.	An der Fensterseite viel Algenmasse, **beste Kultur.**	Am Boden feiner Überzug.	Nicht gewachsen.
Calothrix stellaris aus Petrischale auf Kieselsäuregel. vom 2. 6. 1913.	Noch grün, nicht gewachsen.	Am Boden kleine neue Algenzentren.	Wie in 2, außerdem auf der Oberfläche zartes Häutchen.	Dichte Haut, gute Kultur.	Wie in 4, etwas mehr Algenmasse, **beste Kultur.**	Impfklümpchen noch grün.

Bestimmung der optimalen Konzentration von Ammoniumnitratlösungen.

In den bis jetzt besprochenen Ammoniumverbindungen lag der Stickstoff als Bestandteil des Kations vor, und wie wir oben gesehen haben, wurde er mit gutem Erfolg in Ammoniumphosphatlösungen von den Blaualgen ausgenützt. Interessant war es nun, das Verhalten der Blaualgen in Ammoniumnitratlösungen zu untersuchen, wo ihnen neben dem Kation $NH_4^{\cdot}$ auch noch das gut assimilierbare NO_3' dargeboten wird.

Die Nährlösung bestand aus:

1) 0,5% NH_4NO_3 + 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4$ + $7H_2O$ + Spur $CaSO_4$
2) 0,1% " " "
3) 0,05% " " "
4) 0,025% " " "
5) 0,01% " " "

und $Fe_2(PO_4)_2$ in dopp. dest. Wasser.

In die Lösungen wurden am 7. Juni alle Arten, die bei den vorhergehenden Versuchen verwendet wurden, geimpft. Das Resultat war am 21. Juli folgendes. Wie aus unten stehender Tabelle 6 hervorgeht, wuchsen die Oscillarien, wenn ihnen als Stickstoffquelle Ammoniumnitrat geboten wurde, am besten in Lösung 5. Auch die Kulturen in der nächst höheren Konzentration [4] waren noch gut gediehen. Je weiter man aber in der Konzentrationsreihe bei wachsendem Ammoniumnitratgehalt hinaufging, um so schneller nahm das Wachstum besonders bei Oscillaria tenuis ab. In den Lösungen 1 und 2 war überhaupt kein Wachstum eingetreten.

Nostoc erwies sich wieder empfindlicher als die Oscillarien. Nur bei Gegenwart von 0,01% Nitrat konnte gutes Wachstum festgestellt werden. In den übrigen Lösungen war meistens gar kein Wachstum eingetreten, oder es hatte nur eine sehr geringe Entwicklung stattgefunden.

Auch Cylindrospermum licheniforme und Calothrix stellaris wiesen nur bei geringster Konzentration von Ammoniumnitrat Wachstum auf. Beide Arten sind sehr empfindlich. In stärkere Konzentrationen gebracht, wuchsen sie gar nicht, sondern begannen sich bald zu verfärben und weiß zu werden.

Aus den Resultaten ist ohne weiteres zu schließen, daß alle Arten sich am besten bei minimalem Ammoniumnitratgehalt entwickeln. Im großen und ganzen war auch dann noch die erhaltene Algenmenge oft gering und stand in gar keinem Verhältnis zu derjenigen, die ich in Ammoniumphosphatlösungen in der gleichen Konzentrationsstufe erhielt. Aus diesem Grunde möchte ich Ammoniumnitrat als eine wenig brauchbare Stickstoffquelle für Blaualgen hinstellen. Diese

Ansicht deckt sich mit der Artaris[1]), der ebenfalls Ammoniumnitrat für eine ungünstige Stickstoffquelle hält. Chlamydomonas-Arten, die in Ammoniumnitratlösungen kultiviert wurden, zeigten nur mäßiges Wachstum. — Auch Pringsheim[2]) hält Ammoniumnitrat nicht für sehr geeignet für Cyanophyceenkulturen. Er meint, daß die Blaualgen das Nitrat-Jon vorziehen, und daß die Nährlösung durch das frei werdende Ammoniak nach einiger Zeit alkalisch reagiere.

Kulturen, denen ich Spuren von Calciumkarbonat in Pulverform hinzugefügt hatte, entwickelten sich in Ammoniumnitratlösung wesentlich besser. Da die Lösung eine kleine Menge Ca ohnehin enthielt, so ist die Zugabe wohl nicht der einzige ausschlaggebende Grund, vielmehr wird man in dem Calciumkarbonat als solchem eine auf die Nährlösung nach dem Neutralitätspunkte hin bestimmende Wirkung annehmen müssen. Ich wiederholte nun den Versuch in dem Sinne, daß ich in einer Versuchsserie a) das Calcium durch Karbonat ersetzte, während ich es in der anderen b) als Sulfat beließ. Die Nährlösungen waren sonst die gleichen wie in dem vorhergehenden Versuche mit Ammoniumnitrat.

Am 3. Juli wurden die Kölbchen mit denselben Arten wie vorhin geimpft, und nach einem Monat, am 5. August, war das Ergebnis deutlich zu erkennen. Die Oscillarien hatten sich in den Lösungen 2 bis 5 in der Versuchsreihe a) mit Calciumkarbonatgehalt besser entwickelt als ohne Karbonat. Der Unterschied bestand vor allem darin, daß bedeutend mehr Algenmaterial gebildet worden war. In der niedrigsten Konzentration jedoch bei 0,01% Ammoniumnitratgehalt war ein Übergewicht der erzeugten Algenmassen kaum wahrzunehmen. Der Grund hierfür ist offenbar darin zu suchen, daß der an und für sich schon geringe Ammoniumnitratgehalt eine allzugroße Basicität nach Abbau des NO_3' Anions nicht aufkommen lassen wird und daher die abschwächende Wirkung des Calciumkarbonats nicht so zur Geltung kommt wie in den stärkeren Konzentrationen. Lösung 1 zeigte auch bei Gegenwart von Calciumkarbonat kein Wachstum. Die Konzentration der Lösung war noch zu hoch, um eine Entwicklung zu gestatten.

Mit dem Nostoc wurde in der Versuchsreihe a) ebenfalls besseres Wachstum erzielt als in b). Manchmal jedoch waren die Unterschiede, wie aus der Tabelle hervorgeht, nicht sehr scharf. Den Grund vermute ich darin, daß diese Art in Ammoniumnitrat nicht gut wächst. Immerhin konnte schon in Lösung 2 Wachstum beobachtet

---

[1]) A. Artari, Zur Physiologie der Chlamydomonaden. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik. Bd. 52.

[2]) E. G. Pringsheim, Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. (III. Mitteilung.) Beiträge z. Biologie d. Pflanzen Bd. XII. 1913. S. 75.

Versuch 6.

Angesetzt am 17. Juni 1913. — Ergebnis am 21. Juli 1913.

Bestimmung der optimalen Konzentration von Ammoniumnitratlösungen.

Stammnährlösung: 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4 + 7H_2O$ + Spur $CaSO_4$ und $Fe_2(PO_4)_2$ in dopp. dest. Wasser.

Konzentration.	Lösung 1. 0,5% NH_4NO_3	Lösung 2. 0,1% NH_4NO_3	Lösung 3. 0,05% NH_4NO_3	Lösung 4. 0,025% NH_4NO_3	Lösung 5. 0,01% NH_4NO_3
Oscillaria brevis aus Petrischale mit Kieselgall. vom 20. 5. 1913.	Die Fäden sehen krank aus.	Beide Kulturen sind nicht gewachsen.	Dünne Algenschicht am Glase der Kölbchen.	Schöne Haut, sieht gut aus.	Dicke Haut. **Beste Kultur.**
Oscillaria tenuis aus Heydenagarröhrchen vom 16. 5. 1913.	Die Fäden sind bleich geworden.	Die Fäden sehen gelblich aus.	Fäden ausgebreitet, minimales Wachstum.	Nicht viel gewachsen, sieht gut aus.	Die Algenmasse ist gering geblieben, schön grün.
Nostoc spec. aus Heydenagarröhrchen vom 16. 5. 1913.	Die Fäden sind farblos geworden.	Fäden noch grün.	In einer Kultur wenig gewachsen, die zweite ist unverändert geblieben.	Hübsche Haut, aber geringe Algenmenge.	Vollständig grüner Randbelag. **Beste Kultur.**
Cylindrospermum licheniforme aus Petrischale vom 20. 5. 1913.	Impfklümpchen ist abgestorben.	Die Fäden sehen gelb aus.	Fäden grün, wenig vermehrt.	Hübsche Haut, nicht groß.	Ausgedehnter Randbelag, gut gewachsen.
Calothrix stellaris aus Petrischale vom 20. 5. 1913.	Impfklümpchen ist nicht gewachsen.	Impfklümpchen ist nicht gewachsen.	In einer Kultur spärliches Wachstum, Kontrollkultur nicht gewachsen.	Bildung eines Häutchens.	Dichte Haut, gut gewachsen aber wenig Algenmasse.

Versuch 7.

Angesetzt am 3. Juli 1913. — Ergebnis am 5. August 1913.

Bestimmung der optimalen Konzentration von Ammoniumnitratlösungen a) mit Calciumkarbonat, b) mit Calciumsulfat.

Konzentration		Lösung 1. 0,5% NH_4NO_3	Lösung 2. 0,1% NH_4NO_3	Lösung 3. 0,05% NH_4NO_3	Lösung 4. 0,025% NH_4NO_3	Lösung 5. 0,01% NH_4NO_3
Oscillaria brevis aus Petrischale mit Kieselgall. vom 12. 6. 1913.	a)	Nicht gewachsen.	Zarte Haut. a > b.	Schöne dicke Haut. a > b.	Wie in 3, noch vermehrt. a > b. beste Kulturen.	Dicker Belag an der Glaswand.
	b)	Nicht gewachsen.	Die Fäden sehen krank aus.	Nur wenig vermehrt.	Dünne Haut und zarter Randbelag.	Starker Randbelag, kein Unterschied zwischen a und b.
Oscillaria tenuis aus Heydenagarröhrchen vom 6. 6. 1913.	a)	Nicht gewachsen.	Großer grüner Klumpen, etwas gewachsen.	1. Kultur: zarte Haut. 2. Kultur: grüner Klumpen. a besser als b.	Dichte Haut. a > b.	Sehr dichter Randbelag. Beste Kultur. Eine Kultur a > b.
	b)	Fäden bleich.	Fäden gelb.	Impfklümpchen zusammengeballt.	Auch nicht viel mehr gewachsen.	Algenmasse gering, sieht aber nicht schlecht aus.
Nostoc spec., aus Heydenagarröhrchen vom 6. 6. 1913.	a)	Nicht gewachsen.	Impfklümpchen ausgebreitet, in einer Kultur gewachsen.	Nicht viel gewachsen, sieht aber gut aus. 1 Kultur a > b.	Schöne Haut, a > b.	Wie in 4, in einer Kultur noch stärker, beste Kultur. a > b.
	b)	Fäden weiß.	Fäden gelblich, nicht gewachsen.	1. Kultur kränkelt, 2. Kultur: minimales Wachstum.	Zartes Netz.	Dichteres Netz.
Cylindrospermum licheniforme aus Petrischale vom 12. 6. 1913.	a)	Nicht gewachsen.	Noch grün, nicht gewachsen.	Grünes Häutchen um das Impfklümpchen. a > b.	Sehr hübsche Haut, a > b.	Randbelag und Haut, beste Kultur. a > b.
	b)	Impfklümpchen abgestorben.	Abgestorben.	Noch grün, kaum gewachsen.	Zarte Haut, wenig Algenmasse.	Noch dichter wie in 4.
Calothrix stellaris aus Petrischale vom 12. 6. 1913.	a)	Impfklümpchen gelblich.	Grün, nicht gewachsen.	Auf der Oberfläche kleine Algenzentren. a > b.	Noch vermehrt, Bildung einer Haut. a > b.	Sehr schöne Haut, an der Fensterseite recht dick, beste Kultur.
	b)	Abgestorben.	Grün, nicht gewachsen.	Impfklümpchen kaum größer geworden.	Etwas mehr gewachsen als in 3.	Hübsche Haut.

werden, während die entsprechenden Kontrollkulturen ohne Calciumkarbonat leer geblieben waren.

Cylindrospermum licheniforme und Calothrix stellaris ließen dagegen bedeutend bessere Unterschiede erkennen. Hier fielen allein die Calciumkarbonatkulturen 3 bis 5 durch ihre schöne grüne Färbung auf, während die daneben stehenden Kontrollkulturen nur eine mäßige Entwicklung zeigten. Die Kulturen 1 und 2 waren dagegen ohne jegliches Wachstum gelieben.

Eine bessere Vermehrung der Algensubstanz hatte in calciumkarbonathaltigen Lösungen [3 bis 5] bei allen Arten stattgefunden. Man wird daher nicht fehlgehen, wenn man dem Calciumkarbonat eine die Reaktion der Nährlösung günstig beeinflussende Wirkung zuschreibt, vielleicht weil es die Dissoziation des Ammoniumkarbonates herabsetzt.

Am Ende dieses Kapitels wird nun zu erörtern sein, welche von den besprochenen Stickstoffverbindungen sich am brauchbarsten erwiesen hat. Wie wir gesehen haben, ließ jedes Stickstoffsalz bei bestimmtem Gehalt ein Optimum des Wachstums bei den einzelnen Arten erkennen. Daß dasselbe, was die erzeugte Algenmenge betrifft, ein recht verschiedenes ist, hängt von der Art des Kations ab. In Calciumnitratkulturen stellte ich die größte Algenentwicklung fest, die ich weder in Kaliumnitratlösungen, noch in irgend einem anderen dargebotenen Stickstoffsalz überhaupt erhielt.

Von den Nitriten erwies sich das salpetrige Kaliumsalz in schwach basischer Lösung und niedriger Konzentration 0,01% auch brauchbar. Doch reichte die erzeugte Algenmenge nie an diejenige heran, welche ich in Calciumnitratlösungen gewann. Sie dürfte eher den in Kaliumnitratlösungen erhaltenen Algenmengen gleichzustellen sein und ist auch nur mit dieser zu vergleichen.

Was nun die Ammoniumverbindungen anbelangt, so war das Ammoniumnitrat giftiger als das Ammoniumsulfat. Nach den in niedrigen Konzentrationen erhaltenen Algenmengen zu urteilen, war das Wachstum gering. Diese Tatsache steht in gutem Einklange mit den von Boresch[1]) gemachten Beobachtungen. Ihm war es oft nicht möglich, in Ammoniumverbindungen seine Versuchsalge Phormidium corium zum intensiven Ergrünen zu bringen. Der Verfasser meint, daß bei den Ammoniumsalzen die Giftwirkung auf den Kationen beruht, die dann Nähr- und Giftwirkung zugleich erzeugen. — Bei Ammoniumsulfat ist es die nachteilige Wirkung der H-Jonen-Anhäufung, die nach Verbrauch des NH_4, das Wachstum beeinflußt. Bessere Wachstums-

[1]) K. Boresch, Zur Physiologie der Blaualgenfarbstoffe. Lotos LVIII. Prag 1910.

ergebnisse erzielte ich bei Anwendung von Ammoniumsalzen mit sekundärem Ammoniumphosphat. Dieses Salz war von Pringsheim[1]) ebenfalls mit gutem Erfolg bei Algenkulturen benutzt worden, und über die hierbei auftretenden Jonenwirkungen äußert er sich folgendermaßen:

„Eine zu starke Säuerung wird dabei nicht leicht auftreten, weil die Phosphorsäure verhältnismäßig wenig dissoziiert und daher in dem zunächst entstehenden Monophosphat oder vielmehr Gemisch von NH_4-, PO_4-, HPO_4-, H_2PO_4- und H-Jonen mit den undissoziierten Molekülen $NH_4H_2PO_4$ die H-Jonen weniger konzentriert sind als z. B. in den Lösungen, die entstehen, wenn das Sulfat oder Chlorid des Ammoniums seines Kations beraubt wird."

Aus diesen Darlegungen erhellt, wie weit eine nutzbringende Verwendung des Nitrat-, Nitrit- und Ammonstickstoffs möglich ist. An erste Stelle ist entschieden das Calciumnitrat zu setzen; denn bezüglich der günstigen Nährwirkungen ist keine andere Stickstoffquelle ebenbürtig. Erst in weiterem Abstande ist das sekundäre Ammoniumphosphat, das Kaliumnitrat und von den Nitriten das Kaliumsalz zu nennen. Alle diese Verbindungen gestatten gleich gutes Wachstum. In die letzte Gruppe sind die übrigen Ammoniumverbindungen einzureihen, wie das Ammoniumsulfat und das Ammoniumnitrat. Diese Salze haben sich durchweg ungünstig für Blaualgenkulturen erwiesen, wenn auch bei dem letzteren die Anwesenheit von Calciumkarbonat eine geringe Förderung des Wachstums zur Folge hatte.

IV. Die Bedeutung der übrigen Nährsalze. Ist Calcium notwendig?

Molisch[2]) war zu dem überraschenden Resultat gelangt, daß zahlreiche Grünalgen, wie Microthamnion Kützingianum Naeg., Stichococcus bacillaris Naeg., Ulothrix subtilis (?) Kg. und Protococcus sp. das Calcium vollständig entbehren können. Andere dagegen, wie Spirogyra und Vaucheria gedeihen in einer calciumfreien Nährlösung nicht und gehen bald zugrunde. Diese mit Vermeidung aller Fehlerquellen festgestellte Beobachtung von Molisch wurde bald darauf von Benecke[3]) bestätigt und erweitert. Ihm gelang es, Hormidium

[1]) E. G. Pringsheim, Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. (III. Mitteilung.) Beiträge z. Biologie d. Pflanzen. Bd. XII. 1913. S. 76.

[2]) H. Molisch, Zur Ernährung der Algen. (Süßwasseralgen.) Sitzungsbericht d. kais. Ak. d. Wissensch. zu Wien. Math.-naturw. Kl. Bd. CIV. Abt. I. 1895. S. 794.

[3]) W. Benecke, Über Kulturbedingungen einiger Algen. Bot. Zeitung. 1898. 56. Jg. I. Abt. S. 83.

und Protococcusformen in calciumfreien Nährlösungen zu züchten, ferner führte er den Nachweis für Chlamydomonas longistigma Dill, die ebenfalls das Calcium entbehren kann. Demnach verhalten sich gewisse Grünalgen wie niedere Pilze, die sich bei völligem Ausschlusse von Kalk gleichfalls normal entwickeln. Der Satz, daß die grünen Pflanzen zu ihrer Ernährung des Calciums bedürfen, ist also nicht allgemein gültig. Wie sich aber in dieser Beziehung die Blaualgen verhalten, ist bisher noch ungeklärt. Eine nähere Untersuchung und Prüfung dieser nicht bedeutungslosen Frage schien daher berechtigt.

Wie bei der Prüfung des Stickstoffbedürfnisses im vorhergehenden Abschnitt, so mußte auch hier äußerst sorgfältig zu Werke gegangen werden. Eine exakte Beantwortung der Calciumfrage war nur dann möglich, wenn neben ganz reinen Nährsalzen calciumfreie Gefäße zur Verwendung kamen. Da es kein Ca-freies Glas gibt, so durfte nur mit ausparaffinierten Erlenmeyerkölbchen gearbeitet werden, und sämtliche Gefäße, mit denen die Nährlösung in Berührung kam, waren mit einem Paraffinüberzug zu versehen.

Die calciumfreie Nährlösung hatte folgende Zusammensetzung:

1) 0,01% KNO_3
   0,02% Na_2HPO_4 [1])
   0,02% $MgSO_4 + 7\,H_2O$
   Spur $Fe_2(PO_4)_2$ in dopp. dest. Wasser.
2) Die Lösung 1 mit 0,02% $CaSO_4$ (Aufschlämmung in dopp. dest. Wasser. Es löst sich $>$ 0,05%.)

Lösung 2 diente in unserem Versuche als Kontrollkultur. Die mit der Nährlösung beschickten Kölbchen in den Kontrollkulturen waren ebenfalls mit einem Paraffinmantel ausgekleidet, damit den Blaualgen außer dem bekannten Calciumgehalt keine etwaigen Überschüsse an Calcium zur Verfügung standen, die bei der langen Dauer des Versuches leicht aus dem Glase in Lösung gehen konnten. Auch erschien es schon deshalb angebracht, die Kölbchen für die calciumsulfathaltigen Kulturen auszuparaffinieren, um in beiden Versuchsreihen die gleichen Existenzbedingungen herzustellen.

Als Versuchsalgen dienten Oscillaria brevis, O. tenuis und Nostoc. Das Impfmaterial stammte aus Petrischalen, in denen die Algen speziesrein auf der schon oben erwähnten Kieselsäuregallerte mit bekannter Zusammensetzung [2]) der Nährsalze gezüchtet worden waren. Da dieser Nährboden Calcium enthielt, so war es beim Abimpfen,

---

[1]) Anstatt dieser Verbindung bot ich den Phosphor auch als Ammoniumphosphat dar, um zugleich für einen größeren Stickstoffgehalt in der Nährlösung zu sorgen. Eine merkliche Beeinflussung der Ergebnisse fand aber nicht statt.

[2]) Die Nährlösung bestand aus: 0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4 + 7\,H_2O$ + Spur $Fe_2(PO_4)_2$.

trotzdem die Impfmasse noch in destilliertem Wasser abgespült worden war, nicht ausgeschlossen, daß Calciumspuren den Fäden anhafteten, die in die calciumfreie Nährlösung mit hinübergebracht werden konnten. Es war daher notwendig, um jede Fehlerquelle zu vermeiden, von einer möglichst calciumarmen Kultur auszugehen. Deshalb benutzte ich die Kulturen, in die die Impfmasse von den Petrischalen übertragen war, nur als Zwischenkulturen und impfte von ihnen in eine weitere Serie von ausparaffinierten Kölbchen, die dieselben Nährlösungen enthielten.

Am 15. Oktober 1912 waren die ersten calciumfreien Zwischenkulturen nebst den calciumsulfathaltigen Kontrollkulturen geimpft worden. Nach fünf Tagen wurden die calciumfreien Kulturen zum erstenmal durchgesehen. Die Oscillarien hatten sich an der paraffinierten Glaswand der Kölbchen ausgebreitet, während die Impfmasse der Nostoc spec. untergesunken war und sich zusammengeballt hatte. In den Kontrollkulturen hatten sich die Oscillarien ebenfalls ausgebreitet, Nostoc bildete eine Kugel, von der zahlreiche Fäden strahlig ausgingen.

Am 25. Oktober hatte Oscillaria brevis in calciumfreier Lösung ein zartes Netz gebildet und schien auch etwas zu wachsen. O. tenuis und Nostoc beharrten noch auf ihrem vorigen Standpunkt, sahen aber noch gesund aus. Die calciumsulfathaltigen Kulturen wiesen dagegen einen bedeutenden Fortschritt auf. Schon von weitem ließen die Kölbchen durch ihre grüne Färbung erkennen, daß die Algen reges Wachstum zeigten.

Am 4. November hatte Oscillaria brevis in den calciumfreien Kulturen an der Fensterseite ein kleines Rändchen entwickelt, während O. tenuis nur einen schwachen Überzug von geringer Ausdehnung an der Glaswand hervorgebracht hatte. Nostoc hatte sich kaum vermehrt.

Eine geringe Zunahme der Algensubstanz hatte also bei den Oscillarien in calciumfreier Nährlösung stattgefunden. Daß eine schwache Entwicklung sich bemerkbar gemacht hatte, deutete darauf hin, daß beim Impfen noch genügende Calciumspuren den Fäden anhafteten. Im großen und ganzen war aber das Wachstum viel geringer als in den Calciumkulturen, die inzwischen eine üppige Vermehrung erfahren hatten. Oscillaria brevis bildete eine dicke Haut, ebenso O. tenuis. Nostoc hatte auf der Oberfläche der Kulturflüssigkeit ein ausgedehntes Netz angelegt. Aus der Gegenüberstellung der beiden Versuchsreihen ging deutlich hervor, daß der Calciumgehalt das Wachstum in den Kontrollkulturen sehr gefördert hatte.

Am 21. November war das Wachstum in der calciumfreien Zwischenkultur bei Oscillaria brevis zum Stillstand gekommen. Das Rändchen hatte sich nicht weiter vermehrt, und die Algenfäden begannen gelb zu werden und teilweise zu verbleichen. O. tenuis sah schlecht aus und hatte auch keinen Zuwachs an Algensubstanz erfahren. Nostoc war vollständig farblos geworden. Die Kontrollkulturen dagegen waren weiter gewachsen, und sämtliche Arten wiesen in allen Kölbchen eine ausgezeichnete Vermehrung auf.

Solange die übergeimpften Fäden in den calciumfreien Zwischenkulturen noch gesund waren, und sich anfänglich eine schwache Ent-

wicklung zeigte, wurde aus diesen Kulturen wiederum in eine calciumfreie Nährlösung abgeimpft. Ihr zur Seite stand eine Kontrollkultur mit Calcium, die mit demselben Impfmaterial beschickt wurde.

Beginn des Versuches am 25. Oktober 1912, Ende am 30. November 1912. Die Ergebnisse waren nach zehn Tagen folgende: Die calciumfreien Kulturen hatten gar keine Fortschritte in ihrer Entwicklung gemacht. Die Oscillarien hatten sich ein wenig ausgebreitet, während die Nostoc spec. unverändert geblieben war. In den Kontrollkulturen dagegen hatten die Oscillarien und Nostoc einen zarten Randbelag gebildet, der schön grün und gesund aussah. Nach Verlauf von weiteren zehn Tagen waren die Oscillarien in den calciumfreien Kölbchen zum Teil gelb und farblos geworden. Nostoc war überhaupt nicht verändert. Alle calciumhaltigen Kulturen hingegen hatten sich schön weiter entwickelt.

Am 30. November, nachdem der Versuch über einen Monat im Gange war, waren die Algen in den calciumfreien Kulturen zum größten Teil abgestorben. Viele sahen krank aus, und zu einer Weiterentwicklung war es während der ganzen Versuchszeit nicht gekommen. Anders verhielten sich die Calciumsulfat enthaltenden Kontrollkulturen. In diesen hatten sich in allen Kölbchen dicke Algenpolster auf der Oberfläche der Nährlösung gebildet.

Versuch 8. (Zwischenkultur.)

Die Bedeutung des Calciums für Blaualgen.

Angesetzt am 15. 10. 1912.	Datum	Calciumfreie Kultur. 0,01% KNO_3 0,02% $MgSO_4 + 7\,H_2O$ 0,02% Na_2HPO_4 Spur $Fe_2(PO_4)_2$	Kontrollkultur. Dieselbe Nährlösung, aber mit $CaSO_4$
Oscillaria brevis aus Petrischale vom 6. 9. 1912.	25. 10.	Die Fäden sind auseinandergekrochen, zartes Netz an der Glaswand.	Auf der Oberfläche der Lösung schönes Netz.
	4. 11.	An der Fensterseite zartes Rändchen, Wachstum sehr gering.	Dichtes Netz, bedeutend vermehrt.
	21. 11.	Die Fäden sehen gelb aus.	Sehr dicke Haut.
Oscillaria tenuis aus Petrischale vom 6. 9. 1912.	25. 10.	Fäden an der paraffinierten Glaswand ausgebreitet.	Schönes, grünes Netz.
	4. 11.	Schwacher Überzug an der Glaswand, Wachstum sehr gering.	Sehr schönes Netz, stark vermehrt.
	21. 11.	Die Alge kränkelt.	Sehr gutes Wachstum.
Nostoc spec. aus Petrischale vom 6. 9. 1912.	25. 10.	Impfklümpchen zu Boden gesunken, Fäden strahlig.	Randbelag an der Fensterseite.
	4. 11.	Impfklümpchen kaum vermehrt.	1. Sehr dicker Belag, 2. etwas weniger.
	21. 11.	Die Fäden sind farblos geworden, die Alge ist abgestorben.	Dicker Randbelag und Algenüberzug auf der Oberfläche der Lösung.

Versuch 9.

Die Bedeutung des Calciums für Blaualgen. (Hauptkultur.)

Abgeimpft am 25. 10. von Zwischenkultur	Datum	Calciumfreie Kultur. 0,01% KNO_3 0,02% $MgSO_4 + 7\,H_2O$ 0.02% Na_2HPO_4 Spur $Fe_2(PO_4)_2$	Kontrollkultur. Dieselbe Nährlösung mit $CaSO_4$.
Oscillaria brevis.	4. 11.	Ausbreitung der Fäden, kein Wachstum.	Zarter Randbelag, Wachstum ist bereits eingetreten.
	14. 11.	Die Fäden beginnen gelb zu werden.	Gute Kultur, die Fäden bilden einen halbkreisförmigen Randbelag.
	30. 11.	Fäden farblos, tot.	Sehr üppige Algenkultur.
Oscillaria tenuis.	4. 11.	Ausbreitung der Fäden, aber nicht gewachsen.	Algenmasse an der Fensterseite, noch nicht viel, aber gewachsen.
	14. 11.	Die Fäden sterben ab und sind zum Teil weiß geworden.	Gut gewachsen, besonders stark nach dem Fenster zu.
	30. 11.	Fäden farblos, ganz abgestorben.	Beide Kölbchen zeigen gutes Wachstum.
Nostoc spec.	4. 11.	Impfmasse unverändert geblieben.	Die Fäden haben sich ausgebreitet und vermehrt.
	14. 11.	Gar nicht gewachsen, die Fäden sehen krank aus.	Schönes Algennetz auf der Oberfläche.
	30. 11.	Impfmasse völlig abgestorben.	Noch vermehrt.

Auf Grund dieser Befunde halte ich mich zu der Annahme berechtigt, daß Calcium ein unentbehrliches Element für Oscillarien und Nostoc ist.

Die Verquickung der Calciumfrage mit der Ersetzbarkeit eines Elementes durch ein anderes wie durch Strontium hatte schon Loew[1]) und Molisch[2]) zu folgendem Nachweis bei Grünalgen veranlaßt. Wurde Spirogyren Strontium- anstatt Calciumnitrat oder Strontiumchlorid anstatt Calciumchlorid dargeboten, so zeigte es sich, daß die Algen in Strontiumlösungen länger aushielten als die Kontrollkulturen in calcium- und strontium-freien Nährlösungen. Eine gewisse Zeit lang konnte das Strontium das Calcium ersetzen und ein vorzeitiges Absterben der Alge verhindern. Wie sich in dieser Beziehung Cyanophyceen verhalten, bedurfte noch der Aufklärung.

Am 7. November 1913 impfte ich Oscillaria tenuis, Nostoc spec. und Calothrix stellaris in eine calciumfreie, strontiumhaltige Nährlösung, die folgende Zusammensetzung hatte:

---

[1]) O. Loew, Über die physiologischen Funktionen der Calcium- und Magnesiumsalze im Pflanzenorganismus. Flora 1892. 75. Jg. S. 368.

[2]) H. Molisch, Die Ernährung der Algen. (Süßwasseralgen.) I. Abh. Sitzb. d. kais. Akad. d. W. in Wien. Math.-naturw. Kl. Bd. CIV. Abt. I. 1895. S. 783.

I. 1) 0,1% $Sr(NO_3)_2$ + 0,01% KNO_3 + 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4$ + 7 H_2O + Sp. $Fe_2(PO_4)_2$ in dopp. dest. Wasser.
2) 0,05% = = = = =
3) 0,01% = = = = =
4) 0,005% = = = = =
5) 0,001% = = = = =
6) 0,0005% = = = = =
7) 0,0001% = = = = =
8) — = = = = =

Das Strontiumnitrat wurde zugleich ins Minimum gebracht. Da mit demselben auch der Stickstoff abgestuft wurde, so mußte das fehlende NO_3 ergänzt werden, wozu KNO_3 gewählt wurde.

Die Nährlösung der Kontrollkultur bestand aus:

II. 0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,01% KNO_3 + 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4$ + 7 H_2O + Spur $Fe_2(PO_4)_2$ in dopp. dest. H_2O.

Das Calciumnitrat wurde wie das Strontiumnitrat bis zum Minimum abgestuft und in einer Kultur fortgelassen. Als Kulturgefäße dienten in beiden Fällen ausparaffinierte Erlenmeyerkölbchen. Vom Sterilisieren der Nährlösung, die für die paraffinierten Kölbchen bestimmt war, mußte ich absehen. Die Bereitung der Nährlösungen wurde im Impfkasten vorgenommen, aber trotz dieser Vorsichtsmaßregel wucherten in einer großen Anzahl von Kölbchen nach 2 bis 3 Wochen Pilze, so daß der Versuch sehr gestört wurde. Auch in den Kulturen, die rein geblieben waren, war das Wachstum gering, und es konnten keine Resultate abgelesen werden. Da es ohne Sterilisieren nicht gut möglich war, pilzfreie Kulturen zu erhalten, obwohl bakterienfreies Impfmaterial verwendet wurde, so wiederholte ich den Versuch am 27. Februar 1914 in Jenenser Kölbchen. Das Wachstum war auch jetzt noch in einigen Kulturen nicht sehr kräftig, vielleicht waren die ungünstigen Lichtverhältnisse daran schuld.

Die Ergebnisse sind dahin zusammenzufassen, daß in den strontiumhaltigen Lösungen nach 1½monatlicher Versuchsdauer die Blaualgen in den Kulturen 3 bis 5 sich frisch erhalten hatten. Das Wachstum war aber minimal, während in den entsprechenden Calciumkulturen besseres Wachstum erzielt worden war. In den schwächeren Strontiumlösungen 6 und 7 und in der strontiumfreien Lösung waren die Algen zugrunde gegangen. Das gleiche Verhalten zeigten auch die entsprechenden Calciumkulturen. Der in diesen Kulturen herrschende Calciummangel konnte nicht durch die geringen Strontiummengen von 0,0005% und 0,0001% ersetzt werden. Erst in den Lösungen 3 bis 5 hatten die Blaualgen in dem Strontium einen gewissen Ersatz gefunden. Nach zwei Monaten waren die Kulturen aber zugrunde gegangen, während sich in den Ca-haltigen Kölbchen eine bedeutende Algenmenge gebildet hatte. Demnach scheint das

Strontium das Calcium für eine gewisse Zeit zu ersetzen und den Tod der Blaualgen hinauszuschieben. Von einer völligen Vertretbarkeit kann auch hier wie bei Grünalgen nicht die Rede sein.

Zugleich ist durch diese Versuche wahrscheinlich gemacht, daß das Ca nicht durch irgend welche physikalisch-chemischen Einwirkungen das Wachstum verbessert; denn darin hätte ihm das Sr aller Voraussicht nach gleichstehen müssen.

Läßt sich Kalium durch Natrium ersetzen?

Die Frage von der möglichen Ersetzbarkeit des Kaliums durch ein anderes chemisch sehr nahe verwandtes Element, wie z. B. durch Natrium, ist in der Ernährungsphysiologie der Algen wiederholt aufgetaucht. Erst durch Molisch[1]) ist im Jahre 1895 auf diesem Gebiet Klarheit geschaffen worden. Seine Experimente beweisen auf das deutlichste, daß Grünalgen in kaliumfreien Nährlösungen nicht wachsen und bald zugrunde gehen, daß sie also zu ihrer Ernährung wie die höheren Pflanzen das Kalium nicht entbehren können. Auch gelang es ihm nicht, das Kalium durch Rubidium, Cäsium, Lithium und Natrium zu ersetzen.

Eine durchgehende Bestätigung erfuhren diese Befunde durch Benecke[2]). Er stellte in Übereinstimmung mit Molisch fest, daß nachweisbare Mengen von Kalium für ein gedeihliches Wachstum notwendig sind, und daß es weder durch das schädlich wirkende Cäsium noch durch Rubidium vertreten werden könne. Seine Natriumkulturen wuchsen überhaupt nicht oder doch nur äußerst schwach.

Auch Klebs[3]) stellte das Kalium als notwendiges Nährelement hin. Der einzige Zweifel an der allgemeinen Gültigkeit der Unentbehrlichkeit des Kaliums knüpft sich an Versuche von Benecke[2]) mit Blaualgen. Ihm war aufgefallen, daß in natriumhaltigen, kaliumfreien Nährlösungen verschiedener Conjugaten die gewöhnlichen Eindringlinge Hormidien, Protococcoideen etc. ausblieben, und sich dafür Cyanophyceen ansiedelten. Daraufhin stellte er einige Versuche mit Oscillaria tenuis Ag. (?) an mit dem Ergebnis, daß sich in den natrium- oder kaliumhaltigen Lösungen gleich gut entwickelte Überzüge bildeten. Er meint jedoch, daß seine Erfahrungen noch nicht umfangreich genug seien, um daraus bestimmte Schlüsse ziehen zu können, und daß er

---

[1]) H. Molisch, Die Ernährung der Algen. (Süßwasseralgen.) I. Abh. Sitzb. d. kais. Ak. d. W. in Wien. Math.-naturw. Kl. Bd. CIV. Abt. I. Okt. 1895. S. 783. Die Ernährung der Algen. Okt. 1896. Ebenda, Bd. CV. Abt. I. S. 633.

[2]) W. Benecke, Über Kulturbedingungen einiger Algen. Bot. Zeitg. 1898. 56. Jg. I. Abt. S. 83.

[3]) G. Klebs, Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen. Jena 1896. Verl. v. G. Fischer.

eine ausführliche Arbeit dieser vorläufigen Mitteilung folgen lassen wollte, die aber meines Wissens bis jetzt noch nicht erschienen ist.

Im übrigen kann in betreff der Bedeutung des Natriums für Algen nur auf die nicht eindeutige Beobachtung von Loew und Bokorny[1]), daß Spirogyra in Natron- besser gedeiht als in Kalisalpeter, hingewiesen werden, sowie auf die Versuche Richters[2]) an Meeresdiatomeen, wonach das NaCl hier nicht nur als osmotischer, sondern als Ernährungsfaktor in Betracht kommt, da Natrium unentbehrlich ist.

Ließen sich die fragmentarischen Ergebnisse Beneckes bestätigen, so stünden die Cyanophyceen in der Pflanzenwelt trotzdem als Ausnahmen da, weil die Diatomeen Kalium neben Natrium brauchen. Die Notwendigkeit einer Nachuntersuchung liegt also auf der Hand.

Zur Prüfung des Kaliumbedürfnisses ging ich von einer für meine Cyanophyceenarten gut geeigneten Nährlösung aus. Sie hatte folgende Zusammensetzung:

0,1% $Ca(NO_3)_2$
0,02% K_2HPO_4
0,02% $MgSO_4 + 7\ H_2O$
Spur $Fe_2(PO_4)_2$

Die kaliumfreie Nährlösung enthielt an Stelle des sekundären Kaliumphosphats Natriumphosphat in demselben Prozentgehalt. Mit diesen Nährlösungen, die aus reinsten Salzen von Kahlbaum hergestellt waren, wurden ausgedampfte Erlenmeyerkölbchen aus Jenenser Glas[3]) beschickt. In jedes Kulturgefäß kamen 50 ccm Flüssigkeit. Als Verschluß dienten anstatt eines Wattepfropfens Glaskäppchen, um das Hineinfallen von Fasern zu vermeiden. Nach dem Sterilisieren im Dampftopf wurden je zwei Kölbchen mit einer und derselben Art geimpft und an ein Nordfenster gestellt. Als Versuchsmaterial diente mir Oscillaria brevis, O. tenuis, eine Nostoc-Spezies und eine Chroococcus-Spezies. Sämtliche Arten entstammten Petrischalen mit Kieselsäuregallerte, in die eine Nährlösung von der folgenden Zusammensetzung hineindiffundiert war. 100 ccm dopp. dest. Wasser enthielten 0,1% $Ca(NO_3)_2 + 0{,}02\%\ K_2HPO_4 + 0{,}02\%\ MgSO_4 + 7\ H_2O$ + Spur $Fe_2(PO_4)_2$. Die Arten waren speziesrein, aber nicht bakterienfrei. Abgeimpft wurden nur kleine Mengen von der Algensubstanz, um ein Übertragen

---

[1]) Loew und Th. Bokorny, Chemisch-physiologische Studien über Algen. Journ. f. prakt. Chemie, neue Folge. Bd. 36. 1887. S. 272.

[2]) O. Richter, Die Ernährung der Algen. Leipzig 1911. S. 11.

[3]) Das Jenenser Geräteglas ist gänzlich kaliumfrei, wohl aber können Mg und Zn aus ihm herausgelöst werden. Herbst fand nach dopp. Destillation aus Jenenser Glas in 3 L. Wasser 0,00015 g Mg und 0,0004 Zn. (Nach einer Mitteilung Küsters: Kultur der Mikroorganismen. Leipzig u. Berlin 1907.)

von anhaftenden Kaliumspuren in die kaliumfreie Nährlösung möglichst zu vermeiden. Deshalb verfehlte ich auch nicht, vor dem Impfen die Algenfäden in doppelt destilliertem Wasser abzuspülen.

Beginn des Versuches am 24. Juli 1912, Ende am 8. September 1912.

Am 1. August hatten die Oscillarien in den Kaliumkulturen bereits ihre Fäden ausgebreitet. Auch das Nostoc war auseinander gekrochen und begann sich an der Glaswand anzuheften, während sich die einzellige Chroococcusart noch nicht verändert hatte. Die zuletzt genannte Alge gehört zu den sehr langsam wachsenden Arten, und es ist darauf bei der Wachstumskontrolle Rücksicht zu nehmen.

Die kaliumfreien, natriumhaltigen Kulturen zeigten bis jetzt während der kurzen Versuchsdauer noch kein von den kaliumhaltigen Kontrollkulturen abweichendes Verhalten.

Am 7. August sahen die Kaliumkulturen schön grün aus. Oscillaria brevis und O. tenuis hatten auf der Oberfläche der Kulturflüssigkeit ein dichtes Netz gebildet. Nostoc hatte einen dicken Randbelag an der Fensterseite entwickelt. Auch der einzellige Chroococcus ließ eine Vermehrung der Algensubstanz erkennen. Im Gegensatz zu den eben besprochenen kaliumhaltigen Kontrollkulturen zeigten die Versuchsalgen in der natriumhaltigen Nährlösung ein deutlich abweichendes Verhalten. Rein äußerlich betrachtet fiel diese Versuchsreihe schon dadurch auf, daß die Kölbchen leer geblieben waren. Ein gedeihliches Wachstum der Algen hatte hier nicht stattgefunden. Die Blaualgen sahen zwar noch grün aus, hatten sich aber nicht merklich vermehrt. Die Oscillarien und Nostoc hatten zwar ein sehr zartes Netz auf der Oberfläche der Lösung gebildet, dürften dabei aber kaum an Masse zugenommen haben. Die Chroococcus spec. war ebenfalls grün geblieben, sie war aber nicht weiter gewachsen.

Nach zwei weiteren Wochen, am 21. August, also nach einer einmonatlichen Versuchsdauer, wurden die Kulturen wieder einer eingehenden Untersuchung unterworfen. Hierbei bestätigte es sich, daß nur in den kaliumhaltigen Lösungen die Blaualgen eine starke Vermehrung erfahren hatten. Die Oscillarien bildeten dicke Wülste und Überzüge auf der Oberfläche der Kulturflüssigkeit. Auch die Wände und den Boden der Gefäße hatten sie mit Fäden dicht überzogen. Das gleiche gilt ebenfalls für die Nostoc spec., während die einzellige Cyanophycee auf dem Boden an vielen Stellen neue Algenkolonien angelegt hatte. Im Gegensatz standen hierzu die kaliumfreien Kulturen. Merkliche Vermehrung war bei allen Arten auch weiterhin nicht festzustellen, vielmehr erweckten die kaliumfreien Kulturen den Anschein, als ob jegliches Wachstum zum Stillstand gekommen sei. Dagegen machte sich eine andere Erscheinung bemerkbar. Die Oscillarien begannen allmählich eine ihrem typischen Aussehen ganz entgegengesetzte Färbung anzunehmen. Oscillaria brevis, die im natürlichen Zustande eine dunkle, braungrüne Farbe besitzt, bekam einen gelblichen Farbenton. Manchmal ging die Verfärbung soweit, daß die Algenfäden farblos wurden, dann trat aber auch der Tod ein. O. tenuis war völlig farblos geworden und nicht mehr lebensfähig. Nur eine Nostoc-Kultur hatte am Boden des Gefäßes zwei grüne Stellen aufzuweisen. Eine schwache Vermehrung hatte hier stattgefunden, während die andere Kultur gelbliche, krankhafte Fäden zeigte. Chroococcus war vollkommen bleich geworden und abgestorben.

Daß eine geringe Vermehrung in der eben erwähnten Nostoc-Kultur

trotzdem stattgefunden hatte, ist wohl darauf zurückzuführen, daß beim Überimpfen der Algensubstanz noch geringe Mengen von Kaliumverbindungen anhafteten, die ein schwaches Wachstum ermöglichten.

Eine Vermehrung der Algen war bei sämtlichen Arten also nur in der kaliumhaltigen Nährlösung erzielt worden. Um jedoch ganz sicher zu gehen, wurde am 7. August, zu einem Zeitpunkt, wo in der kaliumfreien Versuchsreihe, die ich als Zwischenkultur bezeichnen will,

Versuch 10.

1. Vorversuch. (Zwischenkultur.)

Beginn 24. Juli 1912. Ende 8. Sept. 1912.	Datum	Kaliumhaltige Kontrollkultur. 0,1% $Ca(NO_3)_2$ 0,02% K_2HPO_4 0,02% $MgSO_4 + 7\,H_2O$ Spur $Fe_2(PO_4)_2$	Natriumhaltige Nährlösung. 0,1% $Ca(NO_3)_2$ 0,02% Na_2HPO_4 0,02% $MgSO_4 + 7\,H_2O$ Spur $Fe_2(PO_4)_2$
Oscillaria brevis aus Petrischale vom 3. Juli 1912.	1. 8.	Die Algenfäden haben sich ausgebreitet, teilweise am Glase haftend.	Die Fäden haben sich ausgebreitet.
	7. 8.	Auf der Oberfläche dichtes Netz, schön grün aussehend.	Einige Fäden sind gebildet worden, im ganzen aber recht wenig.
	21. 8.	Nicht weiter gewachsen, Algenüberzug bedeutend dichter.	Die Fäden sind gelb geworden, kein Wachstum.
	8. 9.	Dicke Haut.	Die Fäden sind abgestorben.
Oscillaria tenuis aus Petrischale vom 3. Juli 1912.	1. 8.	Ausbreitung der Fäden, auf der Flüssigkeit beginnt sich ein Netz zu bilden.	Ausbreitung der Fäden.
	7. 8.	Gut gewachsen, bald die ganze Oberfläche einnehmend.	Nur wenig vermehrt, die Fäden beginnen an den Rändern farblos zu werden.
	21. 8.	Sehr dicke, blaugrüne Algenmenge.	Viele Fäden sind farblos geworden, die Mitte der Impfmasse ist noch grün.
	8. 9.	Dicke Haut.	Die ganze Algenmasse ist farblos geworden, tot.
Nostoc spec. aus Petrischale vom 3. Juli 1912.	1. 8.	Fäden nach der Fensterseite hin ausgebreitet, am Glase haftend.	Fäden nach der Fensterseite hin etwas strahlend.
	7. 8.	Dichter Randbelag, schön grün.	In einer Kultur am Boden einige grüne Fäden, in der andern Kultur schwaches Netz.
	21. 8.	Dicker Überzug.	Am Boden einige grüne Stellen, etwas vermehrt, die andere Kultur wird gelb.
	8. 9.	Das gleiche Verhalten wie am 21. 8.	Die 1. Kultur nicht weiter gewachsen, die 2. tot.
Chroococcus spec. aus Erlenmeyerkölbchen vom 17. Juni 1912.	1. 8.	Impfklümpchen noch grün, aber nicht verändert.	Impfklümpchen grün, keine Veränderung.
	7. 8.	Die Algenmenge hat sich etwas vermehrt.	Kein Wachstum.
	21. 8.	Es beginnen sich an vielen Stellen neue Algenkolonien zu bilden.	Impfklümpchen immer noch unverändert.
	8. 9.	Der Boden ist vollständig grün geworden.	Impfklümpchen gelb, kein Wachstum.

Versuch 11.

Beginn 7. Aug. 1912. Ende 8. Sept. 1912.	Datum	Kaliumhaltige Nährlösung. Abgeimpft am 7. 8. aus der kaliumfreien Kultur.	Natriumhaltige Nährlösung. Abgeimpft am 7. 8. aus der kaliumfreien Kultur.
Oscillaria brevis.	14. 8.	Fäden ausgebreitet.	Fäden am Boden liegend, noch nicht an der Glaswand haftend.
	21. 8.	An der Glaswand dichtes Netz, wenn auch noch nicht sehr vermehrt.	Fäden spärlich am Boden an einigen Stellen haftend, sonst aber nicht vermehrt.
	8. 9.	Dickeres Netz, Wachstum hat zugenommen.	Fäden sehen gelb aus, kein Wachstum.
Oscillaria tenuis.	14. 8.	Zartes Netz, schon vermehrt.	Auf der Nährflüssigkeit sehr zartes kleines Netz.
	21. 8.	Die Haut ist dichter geworden.	Die Fäden sind farblos geworden und abgestorben.
	8. 9.	Vermehrung der Algenmenge, sehr schön grün.	—
Nostoc spec.	14. 8.	Zarter Randbelag an der Fensterseite.	1. Impfklümpchen zusammengeballt, 2. Fäden nur wenig ausgebreitet.
	21. 8.	Die Algenmenge hat sich bedeutend vermehrt.	Beide Kulturen sehen krank aus.
	8. 9.	Dicker Randbelag.	Nicht gewachsen, gelb.
Chroococcus spec.	14. 8.	Impfklümpchen noch nicht größer geworden.	Impfklümpchen grün, noch nicht verändert.
	21. 8.	Impfklümpchen in 1 größer geworden, in 2 noch nicht gewachsen.	Gar nicht gewachsen, noch grün.
	8. 9.	Die Algenmenge hat in beiden Kulturen zugenommen.	Nicht gewachsen, gelb.

das Algenmaterial noch gesund und wachstumsfähig war, noch einmal in eine kaliumfreie, natriumhaltige Nährlösung mit der entsprechenden Kontrollkultur abgeimpft, die unter den gleichen Bedingungen, wie oben beschrieben wurde, hergestellt worden war.

Das Resultat war, um es gleich voraus zu sagen, nach einem Monat noch schlagender als im ersten Versuche. Nur in den kaliumhaltigen Lösungen hatten sich üppige Kulturen entwickelt, die kaliumfreien zeigten keine Spur von Wachstum. Aus diesen Versuchen geht mit Bestimmtheit hervor, daß das Kalium für die Ernährung der Blaualgen durchaus notwendig ist. Nach meinen Versuchen steht es zweifellos fest, daß Oscillaria brevis, O. tenuis, Nostoc und Chroococcus spec. das Kalium nicht entbehren können, und daß es durch Natrium nicht ersetzt werden kann. Die untersuchten Arten verhalten sich wie Grünalgen, deren reichliches Kaliumbedürfnis Molisch, Klebs und Benecke festgestellt haben. Demnach müssen wohl Beneckes Blaualgenkulturen nicht absolut kaliumfrei gewesen sein.

Ob das Ergebnis auf alle Cyanophyceen auszudehnen ist, bleibt dahingestellt. Aber wenn man sich auch in physiologischen Fragen

und bei dem ungeheuren Artenreichtum, wie ihn die Blaualgen umfassen, vor Verallgemeinerungen hüten muß, so ist doch mit großer Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß das Kalium nicht bloß von den von mir geprüften Arten, sondern ebenso von den anderen Arten der Cyanophyceen nicht entbehrt werden kann. Denn gerade in derartigen Dingen verhalten sich die großen Gruppen verwandter Organismen im allgemeinen gleich.

Zum Schluß möge noch ein Versuch Erwähnung finden, der die Notwendigkeit des Kaliums bei der Ernährung der Blaualgen von neuem beweist. Sobald die Algen in den natriumhaltigen Nährlösungen anfingen zu kränkeln, wurden 20 ccm einer 0,02% Kaliumphosphatlösung den Kulturen vorsichtig zugegeben. Nach einigen Tagen bemerkte ich, wie sich die kränklichen Fäden, wenn das Absterben noch nicht zu weit fortgeschritten war, alsbald erholten und allmählich ihre grüne Farbe wieder bekamen. Das unterbrochene Wachstum setzte wieder ein und nach drei Wochen waren die Algen so üppig gewachsen, daß sie bereits nicht mehr von den kaliumhaltigen Kontrollkulturen in betreff der erzeugten Algenmenge unterschieden werden konnten. Derselbe Versuch konnte mit dem gleichen Erfolg wiederholt werden, wenn der natriumhaltigen Nährlösung das Kalium in Form von 20 ccm einer 0,01% Kaliumnitratlösung hinzugefügt wurde, während Kaliumnitrit zuweilen schädigende Wirkungen hervorbrachte.

An dieser Stelle will ich noch einer Beobachtung gedenken, die ich gelegentlich machte. Einige kaliumfreie Kulturen mit der Nostoc spec. sollten, da der Versuch beendet war, weggestellt werden. Zufällig blieben sie am Fenster ohne Glaskäppchen geöffnet stehen. Als ich nach ungefähr drei Wochen auf diese Kulturen, in denen anfänglich keine Spur von Wachstum zu erblicken war, aufmerksam wurde, konnte ich feststellen, daß das Nostoc in allen Gefäßen nachträglich am Boden zu wachsen begonnen hatte. Diesen Fall glaube ich dahin erklären zu sollen, daß in den Staubpartikelchen, die in die offenen Kölbchen gelangten, genügende Spuren von Kalium sich vorfanden, die eine Entwicklung gestatteten.

Die optimale Konzentration des Kaliums.

Die Notwendigkeit des Kaliums war durch meine Versuche für Blaualgen erwiesen. Es wird nun festzustellen sein, wie bei wechselndem Konzentrationsgehalt dieses unentbehrlichen Elementes das Wachstum der Cyanophyceen beeinflußt wird. Wenn wir die Verbindung KNO_3 haben, so soll dieselbe von einem gewissen Punkte, wo gerade Wachstum stattfindet, bis zum Minimum in regelmäßigen Zwischenräumen abgestuft werden. In dem Maße nun, wie das Kation $K^{\cdot}$ bei abnehmendem Konzentrationsgehalt eine Verringerung erleidet, ist dies

auch bei dem stickstofffführenden Anion NO_3' der Fall. Aus diesem Grunde mußte dafür gesorgt werden, daß auch in den schwächsten KNO_3-Konzentrationen noch genügende Stickstoffmengen vorhanden waren. Es war daher notwendig, in den Nährlösungen außer KNO_3 noch eine andere N-Quelle zur Verfügung zu haben, wozu Calciumnitrat gewählt wurde. Auf diese Weise war es möglich, in allen Lösungen, wenn der Kaliumnitratgehalt immer kleiner und kleiner wurde, den für die Ernährung der Algen nötigen Überschuß an Stickstoff zu erhalten.

Die Zusammensetzung der Nährlösungen war folgende:

1) 0,025% KNO_3 + 0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% Na_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4$ +
2) 0,01% = = = = 7 H_2O + Sp.
3) 0,005% = = = = $Fe_2(PO_4)_2$ in
4) 0,001% = = = = dopp. dest.
5) 0,0005% = = = = Wasser.
6) 0,0001% = = = =
7) — = = = =

Zur Verwendung gelangten wie bei den kaliumfreien Versuchen Erlenmeyerkölbchen aus Jenenser Geräteglas. Oscillaria brevis, Nostoc spec. und Calothrix stellaris wurden am 11. August 1913 in die Nährlösungen geimpft. Nach fünf Wochen, am 17. September 1913, konnten bereits die Ergebnisse festgestellt werden.

Oscillaria brevis: In Lösung 1 hatte sich eine dünne Haut entwickelt, in 2 war sie bedeutend dichter und stärker geworden, in 3 war in beiden Kulturen eine sehr dicke Haut angelegt worden, in 4 war sie auch noch gut gediehen, zeigte aber in einer Kultur schon weniger Algenmenge. Eine deutliche Abnahme der Algensubstanz fand in Lösung 5 statt, in 6 war sehr wenig gewachsen, und in 7 war bei völligem Ausschluß des Kaliums jegliches Wachstum unterblieben.

Nach dem Augenschein zu urteilen, waren die Wachstumsmengen besonders reichlich in den Lösungen 2 bis 4. Das beste Wachstum erzielte ich mit Oscillaria brevis in Lösung 3 bei einem Gehalt von 0,005% KNO_3.

Nostoc spec.: Lösung 1. Fäden gelblich, wenig gewachsen; 2. zarte Haut, noch nicht viel Algenmasse; 3. bedeutend vermehrt; 4. sehr üppiger Randbelag, sieht am besten aus; 5. auch noch gut, aber etwas weniger Algenmasse; 6. kaum gewachsen; 7. kein Wachstum.

Für Nostoc spec. liegt das optimale Wachstum in Lösung 4 bei einem Gehalt von 0,001% KNO_3.

Calothrix stellaris: Lösung 1. Impfklümpchen grün, nicht viel gewachsen; 2. zarte Haut, deutlich vermehrt; 3. sehr schöne Haut, am besten gewachsen; 4. weniger dicht; 5. noch weniger Algenmasse; 6. Impfklümpchen gelblich, kaum vermehrt; 7. kein Wachstum.

Das optimale Wachstum stellte sich bei Calothrix stellaris in Lösung 3 bei einer Konzentration von 0,005% KNO_3 ein.

Aus diesen Versuchen, die nur den Kaliumgehalt berücksichtigen, geht hervor, daß die Blaualgen mit ziemlich geringen Mengen dieses unentbehrlichen Elementes auskommen können. Wird jedoch der Kaliumgehalt zu minimal oder bei einer Versuchsreihe [7] ganz weggelassen, so tritt, wie wir schon bei den kaliumfreien Versuchen gesehen haben, infolge Nahrungsmangels der Tod ein.

Die optimale Konzentration des Phosphors.

In entsprechender Weise wie beim Kalium wurde nun beim Phosphor verfahren. Als phosphorführende Verbindung wurde Dikaliumphosphat gewählt, das zum Minimum abgestuft wurde. Das hierbei ebenfalls ins Minimum gebrachte Kalium wurde durch KNO_3 ergänzt. Die Nährlösungen hatten demnach folgende Zusammensetzungen:

1) 0,05% K_2HPO_4 + 0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,01% KNO_3 + 0,02% $MgSO_4 + 7H_2O$ + Spur Fe.
2) 0,01% = = = = =
3) 0,005% = = = = =
4) 0,001% = = = = =
5) 0,0005% = = = = =
6) 0,0001% = = = = =
7) — = = = = =

Am 12. August 1913 wurden die Nährlösungen geimpft. Zum Versuche wurden wieder Oscillaria brevis, Nostoc spec. und Calothrix stellaris herangezogen. Das Ergebnis war am 17. September folgendes:

Oscillaria brevis hatte in Lösung 1 nur einen Rand an der Glaswand des Gefäßes entwickelt, während in den Lösungen 2 und 3 sich sehr starke Algenhäute gebildet hatten. In Lösung 4 nahm die Algenmenge schon merklich ab, desgleichen in Kultur 5. In Kultur 6 mit niedrigstem Phosphatgehalte waren sehr spärliche Algenmengen gewachsen, während in den Kulturen, wo der Phosphor ganz weggelassen wurde, überhaupt kein Wachstum zu verzeichnen war.

In den Konzentrationen 0,01% und 0,005% K_2HPO_4 war demnach Oscillaria brevis am besten und üppigsten gewachsen.

Nostoc spec. zeigte in Lösung 1 schwaches Wachstum. Auf der Oberfläche der Nährlösung waren nur wenige Fäden zu bemerken. In 2 war eine reichlichere Vermehrung wohl vorhanden, aber zu einer zusammenschließenden Haut war es noch nicht gekommen. Lösung 3 zeigte ungefähr das gleiche Verhalten wie 2. In Kultur 4 waren bedeutende Algenmengen gebildet worden. Auch durch die schöne grüne Farbe, die diese Kulturen erreichten, ließen sie den Höhepunkt der Entwicklung in der Versuchsreihe deutlich erkennen; denn in Lösung 5 erfolgte bereits eine Abnahme der Algensubstanz. 6 war sehr zurückgeblieben, und in der phosphorfreien Lösung 7 war gar keine Entwicklung vor sich gegangen. Die Fäden waren vollkommen farblos geworden und abgestorben.

Calothrix stellaris: Lösung 1. Auf der Oberfläche der Lösung hatten sich einige grüne Stellen gebildet; 2. das gleiche Verhalten wie in 1;

3. bedeutend vermehrt, die Algencentren schließen sich zu einer Haut zusammen; 4. sehr grüne, dicke Haut; 5. schöne Haut, auch noch gut, aber schon etwas weniger Algenmenge; 6. sehr dünne Haut; 7. nicht gewachsen.

Für Nostoc spec. und Calothrix stellaris erhielt ich das Optimum der Entwicklung bei der Konzentration 0,001% K_2HPO_4. Die Quantität der erhaltenen Algenmengen wuchs stetig von 0,05% bis 0,001%, um dann allmählich wieder abzunehmen und schließlich bei der Abwesenheit von Phosphor gleich null zu sein.

Demnach hat also jede der geprüften Blaualgenarten ihr spezifisches Optimum für Kalium und Phosphor, wahrscheinlich auch für die übrigen notwendigen Elemente, wie das auch schon für die Stickstoffverbindungen gezeigt worden ist.

V. Die optimale Reaktion der Nährlösung.

Schon Molisch[1]) war zu dem Resultat gekommen, daß schwache Alkalität der Nährlösung von größtem Vorteile für Algenkulturen ist. Er brachte Spirogyra-, Vaucheria-, Cladophora-, Oedogonium- und Oscillaria-Arten in folgende Nährlösung:

1000 g H_2O
0,2 g KNO_3
0,2 g KH_2HPO_4
0,2 g $MgSO_4$
0,2 g $CaSO_4$
Spur Eisenvitriol.

Nach 1 bis 3 Tagen begannen die Algen zu kränkeln oder abzusterben. Der Grund hierfür war in dem Monokaliumphosphat zu suchen, das schwach sauer reagiert. Nachdem dasselbe durch das alkalisch reagierende Dikaliumphosphat ersetzt worden war, blieben die Algen gesund. Dieser Befund stimmt mit der von Molisch gemachten Beobachtung überein, daß die meisten natürlichen Wässer, wie sie in Bächen, Teichen und Seen vorliegen, schwache Alkalität aufweisen. Rotes Lakmuspapier, welches er in solches Wasser warf, bläute sich schon nach 15 Minuten oder erst in einer Stunde. In hartem Wasser ging die Blaufärbung selbstverständlich schneller vor sich als in weichem. Die Ursache der Basicität des Wassers ist dem kohlensauren Kalk zuzuschreiben, welcher das Wasser alkalisch macht.

Vor Molisch waren es O. Loew[2]) und Migula[3]) gewesen, die

---

[1]) H. Molisch, Die Ernährung der Algen. (Süßwasseralgen.) II. Abhandlung. Sitzb. d. kais. Akad. d. W. in Wien. Math.-naturw. Kl. Bd. CV. Abt. I. S. 634.

[2]) O. Loew, Sind Arsenverbindungen Gift für pflanzliches Protoplasma? Pflüg. Arch. 1883. Bd. 32.

[3]) W. Migula, Über den Einfluß stark verdünnter Säurelösungen auf Algenzellen. Inaug.-Diss. Breslau 1888.

die Empfindlichkeit einer großen Anzahl von Grünalgen gegen Säuren festgestellt hatten, und auch Artari[1]) kam zu dem Resultat, daß Chlorella communis n. sp. in Dikaliumphosphat- besser gedieh als in Monokaliumphosphatlösungen.

Ebenso betonte O. Richter[2]) neben anderen Autoren, daß schwach akalische Reaktion des Nährsubstrates nicht nur für Grünalgen, sondern auch für Diatomeen von größter Wichtigkeit ist.

Bei Algenkulturen ist besonders darauf zu achten, die Bedingungen der Kultur möglichst den natürlichen Verhältnissen anzupassen, und es ist zweckmäßig, in den Nährlösungen für eine schwache Alkalität zu sorgen, wie dieselbe etwa mit dem sekundären Kaliumphosphat erreicht wird, das bei allen meinen Versuchen mit bestem Erfolg benutzt wurde.

Wie aber Pringsheim[3]) betont, wäre eine genauere Feststellung der optimalen Reaktion erwünscht, wie sie durch Gemische der verschiedenen Orthophosphate erzielbar ist. In folgendem wird es also meine Aufgabe sein, nahe am Neutralitätspunkte liegende H- und OH-Jonenkonzentrationen darzustellen und zu beobachten, in welchen Grenzen gesundes Wachstum in solchen Lösungen möglich ist. Nach den vorliegenden Erfahrungen[4]) ist es am besten, nicht die Salze selbst rein und mit einem bestimmten Kristallwassergehalt darzustellen, sondern von einer Lösung auszugehen, die 1 g-Mol Phosphorsäure im Liter enthält. Eine solche nicht durch Titration eingestellte Phosphorsäurelösung von bestimmtem Gehalt ist von Kahlbaum zu beziehen. Die Phosphorsäure wird mit einer auf Normaloxalsäure eingestellten Kalilauge vermischt.

1 Teil n-H_3PO_4 + 1 Teil n-KOH = KH_2PO_4 + H_2O primäres Kaliumphosphat $^1/_2$ n.

1 Teil n-H_3PO_4 + 2 Teile n-KOH = K_2HPO_4 + 2 H_2O sekundäres Kaliumphosphat $^1/_3$ n.

1 Teil n-H_3PO_4 + 3 Teile n-KOH = K_3PO_4 + 3 H_2O tertiäres Kaliumphosphat $^1/_4$ n.

Diese Lösungen wurden auf gleiche Normalität gebracht und

---

[1]) A. Artari, Der Einfluß der Konzentrationen der Nährlösungen auf die Entwicklung einiger grüner Algen II. 1906. Pringsh. Jb. f. w. B. Bd. XL. H. 4.

[2]) O. Richter, Zur Physiologie der Diatomeen. (II. Mitteilung.) Die Biologie der Nitzschia putrida Benecke. Denkschrift d. kais. Akad. d. W. in Wien. Math.-naturw. Kl. 1909. LXXXIV. Bd. [657] 1.

[3]) E. G. Pringsheim, Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. (III. Mitteilung.) Beiträge z. Biologie d. Pflanzen. Bd. XII. 1913. S. 77.

[4]) L. Michaelis, Methoden zur Herstellung bestimmter Wasserstoffjonenkonzentrationen, Abderhaldens Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden. Bd. III, 2. Berlin und Wien. 1910. S. 1343.

bildeten die Stammlösungen. Das primäre und das sekundäre Phosphat ist nach Michaelis fast vollkommen dissoziiert.

$$KH_2PO_4 = K^{\cdot} + H_2PO_4'$$

Das sekundäre Phosphat in folgender Weise:

$$K_2HPO_4 = 2K^{\cdot} + HPO_4''$$

In einem Gemisch von primärem und sekundärem Kaliumphosphat sind fast genau soviel einwertige Phosphorsäure-Jonen H_2PO_4' enthalten, als primäres Phosphat darin gelöst wurde, und soviel zweiwertige Phosphorsäure-Jonen HPO_4'', als sekundäres Phosphat gelöst wurde. Nun besteht aber eine Beziehung zwischen $H^{\cdot}$, H_2PO_4' und HPO_4'' nach dem Massenwirkungsgesetz:

$$[H^{\cdot}] \cdot [HPO_4''] = k\,[H_2PO_4'] \text{ oder}$$

$$[H^{\cdot}] = \frac{k\,[H_2PO_4']}{[HPO_4'']}$$

wo k die Dissoziationskonstante der Phosphorsäure ist.

k beträgt für 18° $2{,}0 \cdot 10^{-7}$.

In einem Phosphatgemisch ist

$$[H^{\cdot}] = 2{,}0 \cdot 10^{-7} \frac{[\text{prim. Phosphat}]}{[\text{sek. Phosphat}]} \text{ für } 18^0$$

Phosphatgemische enthalten folgende $H^{\cdot}$– Konzentrationen:

primäres Phosphat / sekundäres Phosphat	$[H^{\cdot}]$ bei 18°
$^8/_1$	$0{,}16 \cdot 10^{-5}$
$^4/_1$	$0{,}80 \cdot 10^{-6}$
$^2/_1$	$0{,}40 \cdot 10^{-6}$
$^1/_1$	$0{,}20 \cdot 10^{-6}$
$^1/_2$	$1{,}0 \cdot 10^{-7}$
$^1/_4$	$0{,}50 \cdot 10^{-7}$
$^1/_8$	$0{,}25 \cdot 10^{-7}$

Die von mir hergestellten $^1/_{12}$ normalen Phosphatlösungen, die solchen von primärem und sekundärem Phosphat entsprechen, wurden in verschiedenen Verhältnissen gemischt und den Nährlösungen hinzugefügt, sodaß die letzteren $^1/_{200}$ Mol an Phosphaten aufwiesen. Als Stickstoffquelle wurde KNO_3 in geringer Konzentration (0,01%) hinzugegeben. Magnesiumsulfat und Calciumsalze mußten wegen der Gefahr der Bildung von unlöslichen Phosphaten in den Nährlösungen möglichst in geringer Menge angewandt werden. Es kam daher 0,01% Magnesiumsulfat in Anwendung und von Calciumsulfat wurden nur einige Tropfen einer in doppelt destilliertem Wasser aufgeschlämmten Gipslösung von 0,01% hinzugefügt. Von Eisen, das als Sulfat vorlag, waren nur Spuren zugegen.

Am 31. Juli 1913 wurden Oscillaria brevis, O. tenuis, Nostoc spec. Cylindrospermum licheniforme und Calothrix stellaris, wie aus untenstehender Tabelle hervorgeht, einmal in primäres und sekundäres

Kaliumphosphat geimpft und dann in die diesen Phosphaten entsprechenden verschiedenen Gemische. Das Ergebnis war am 29. August folgendes:

Oscillaria brevis war in Lösung 1 bei Gegenwart von primärem Kaliumphosphat eingegangen. Nicht viel anders war es ihr in den Kulturen 2 bis 4 ergangen, wo das primäre Phosphat noch im Überschuß vorhanden war. Die Algenfäden hatten sich zwar in Kultur 3 und 4 ausgebreitet, aber zu einer guten Entwicklung war es nicht gekommen. Teilweise sahen die Fäden gelb aus und kränkelten. Gesundes Wachstum setzte erst in Lösung 5 ein, wo der Alge gleiche Mengen von primärem und sekundärem Phosphat zur Verfügung standen. Doch war dasselbe auch hier noch gering. Bei zunehmendem Übergewicht des sekundären Phosphats nahm dagegen das Wachstum, wie aus der Tabelle ersichtlich ist, stetig zu. Gutes Wachstum wurde in den Lösungen 6 und 7 erzielt, das beste in Lösung 8 und 9. In der letzteren war freilich alles primäre Phosphat durch das sekundäre ersetzt worden. Ein scharfer Unterschied war zwischen diesen beiden Kulturen [8 und 9] nicht zu bemerken.

Oscillaria tenuis war wieder empfindlicher gegen H-Jonen als O. brevis. Erst in Lösung 6 hatte O. tenuis sichtbare Vermehrung erfahren. Die Kulturen 1 bis 3 waren vollständig eingegangen, 4 und 5 waren noch am Leben geblieben, zeigten aber keine gesunde Entwicklung. Nur wenige Fäden waren um die teilweise zusammengeballten Impfklümpchen strahlig angelegt worden. Erst Kultur 7 wies gutes Wachstum auf. Am besten hatten sich die Kulturen 8 und 9 entwickelt. Nach den erhaltenen Algenmengen zu urteilen, waren dieselben in den Lösungen, wo überhaupt Wachstum stattgefunden hatte, nicht so reichlich gediehen wie bei O. brevis. Während diese Art sich den H-Jonenkonzentrationen besser anzupassen vermag, ist dies bei O. tenuis nicht in demselben Maße der Fall. Ihr ungefähr gleich zu stellen ist die Nostoc spec. Nostoc war ebenfalls in Lösung 6 erst gut gewachsen, während in den vorhergehenden Kulturen 4 und 5 nur eine sehr schwache Entwicklung festzustellen war. Bei weiterer Zunahme des sekundären Kaliumphosphates wuchs in den Lösungen 7 bis 9 die Algenmenge. Das beste Wachstum konstatierte ich dagegen wieder bei sehr geringer Gegenwart des primären Phosphates (Lösung 8) oder bei dessen völliger Abwesenheit. (Lösung 9.)

Noch empfindlicher waren Cylindrospermum licheniforme und Calothrix stellaris. In den Lösungen 5 und 6 war wohl ein äußerst schwaches Wachstum wahrzunehmen gewesen, doch war von einer regen Vermehrung der Algensubstanz auch späterhin nichts zu erkennen. Besseres Wachstum erzielte ich mit diesen Arten erst in Lösung 7. Eine günstige Steigerung hatte dasselbe besonders in Kultur 8 erfahren, während das Optimum bei 9 liegen dürfte.

Aus der Gegenüberstellung der Wachstumsergebnisse in primärem und sekundärem Phosphat an beiden Enden der Tabelle ist zu entnehmen, daß alle Arten sich nur in sekundärem Kaliumphosphat entwickelten, während das primäre Kaliumphosphat überhaupt kein Wachstum aufkommen ließ. Je nach der Empfindlichkeit der einzelnen Arten gegen die H-Jonenkonzentrationen konnte in den verschiedenen Phosphatgemischen bei bedeutendem Überschuß von Dikaliumphosphat

Angesetzt am 31. Juli 1913. **Versuch 12.** Ergebnis am 29. August 1913.

Verschiedene Gemische von primärem und sekundärem Kaliumphosphat.

Stammnährlösung: 0,01% KNO_3 + 0,01% $MgSO_4$ + $7H_2O$ + Spur $CaSO_4$ und $FeSO_4$.

Mischungsverhältnis von prim. u. sek. Phosphat.	Lösung 1. KH_2PO_4 ($^1/_{200}$ n.)	Lösung 2. prim. u. sek. Phosphat 8 : 1 ($^1/_{200}$)	Lösung 3. 4 : 1 ($^1/_{200}$)	Lösung 4. 2 : 1 ($^1/_{200}$)	Lösung 5. 1 : 1 ($^1/_{200}$)	Lösung 6. 1 : 2 ($^1/_{200}$)	Lösung 7. 1 : 4 ($^1/_{200}$)	Lösung 8. 1 : 8 ($^1/_{200}$)	Lösung 9. K_2HPO_4 ($^1/_{200}$)
Oscillaria brevis aus Petrischale mit Kieselg. vom 2. 7. 1913.	Fäden eingegangen, bleich.	Fäden eingegangen.	Fäden ausgebreitet, sehr wenig gewachsen, gelblich.	Zartes Häutchen, nicht viel Algenmasse.	1 Kultur wie in 4, die andere mehr Algenmasse.	Schöne Haut, gut gewachsen.	Gut gewachsen, der Unterschied zwischen 6 u. 7 ist nicht erheblich.	Sehr viel Algenmasse, noch stärkere Haut.	Sehr schöne, dicke Haut.
O. tenuis, Reinkultur aus Heydenagarröhrchen vom 25. 6. 1913.	Eingegangen.	Eingegangen.	Eingegangen.	Kaum gewachsen, nur wenige Fäden gebildet.	Fäden zusammengeballt, nicht viel vermehrt.	Zartes Netz.	Dichtes Netz, gutes Wachstum.	Sehr dichtes Netz.	Sehr dichtes Netz.
Nostoc spec., Reinkultur aus Heydenagarröhrchen vom 25. 6. 1913.	Impfklümpchen farblos.	Nicht gewachsen.	Nicht gewachsen.	Einzelne Fäden durchziehen die Flüssigkeit.	Bildung eines Häutchens, nicht viel gewachsen.	Zarte Haut, dieselbe ist stärker als bei 5.	Dichte Algenmenge, gute Kultur.	Sehr gutes Wachstum, Haut und Bodenbelag.	Wie in 8.
Cylindrospermum licheniforme aus Petrischale vom 9. 6. 1913.	Eingegangen.	Eingegangen.	Eingegangen.	Impfklümpchen sieht krank aus.	Wenig gewachsen.	Grüner Hof um das Impfklümpchen, geringes Wachstum.	Schon bedeutend vermehrt, gut gewachsen.	Schöne, grüne Haut.	Noch besser.
Calothrix stellaris aus Petrischale vom 9. 6. 1913.	Eingegangen.	Eingegangen.	Eingegangen.	Impfklümpchen gelblich.	Etwas vermehrt.	Zarte Haut auf der Oberfläche.	In 1 Kult. nicht viel stärker geworden, 2. Kultur viel besser.	Dichte Haut, sehr gutes Wachstum.	Dichte Haut, kein großer Unterschied zwischen 8 und 9.

Angesetzt am 29. Oktober 1913. **Versuch 13.** Ergebnis am 3. Dezember 1913.

Verschiedene Gemische von sekundärem und tertiärem Kaliumphosphat.

Stammnährlösung: 0,01% KNO_3 + 0,01% $MgSO_4$ + $7H_2O$ + Spur $CaSO_4$ und $FeSO_4$ in dopp. dest. Wasser.

Mischungsverhältnis von sek. u. tert. Phosphat.	Lösung 1. K_2HPO_4 ($^1/_{200}$ n.)	Lösung 2. sek. u. tert. Phosphat. 4 : 1 ($^1/_{200}$)	Lösung 3. 2 : 1 ($^1/_{200}$)	Lösung 4. 1 : 1 ($^1/_{200}$)	Lösung 5. 1 : 2 ($^1/_{200}$)	Lösung 6. 1 : 4 ($^1/_{200}$)	Lösung 7. K_3PO_4 ($^1/_{200}$)
Oscillaria brevis aus Petrischale mit Kieselg. vom 14. 8. 1913.	Sehr dicke Haut, am besten gewachsen.	Wie in 1. Kein Unterschied zwischen 1 und 2.	1. Kultur: dicke Haut, 2. Kultur: dieselbe etwas dünner.	Dicke Haut, etwas dünner.	Haut merklich dünner, in einer Kultur recht dünn.	Haut sehr dünn.	Zartes Häutchen, nicht viel Algenmasse.
Oscillaria tenuis, Reinkultur aus Heydenagarröhrchen vom 15. 8. 1913.	Sehr schönes, grünes Netz, am besten gewachsen.	Sehr schönes Netz, kein Unterschied zwischen 1 und 2.	Das gleiche Verhalten.	Die Fäden haben sich zu einer Kugel vereinigt.	Dichte Kugel, nicht viel Algenmasse.	Wie in 5.	Dicke grüne Kugel, klein geblieben.
Nostoc spec., Reinkultur aus Heydenagarröhrchen vom 15. 8. 1913.	Sehr dicker Belag. Am besten gewachsen.	Sehr dicke Haut und Randbelag.	Ebenso wie in 2.	Haut etwas dünner.	Dichter Klumpen, Fäden nach dem Fenster zu strahlend.	Das gleiche Verhalten wie in 5.	Impfklümpchen zusammengeballt, klein geblieben.
Cylindrospermum licheniforme aus Petrischale vom 14. 8. 1913.	Schöne, grüne Haut.	Schöne Haut.	Schöne Haut.	Weniger Algenmasse, wie in 3.	In einer Kultur wie in 4, in der anderen Algenmenge noch geringer.	Nicht viel Algenmenge.	Impfklümpchen ist nicht gewachsen.
Calothrix stellaris aus Petrischale vom 14. 8. 1913.	Sehr schöne Haut.	Sehr schöne Haut.	Sehr schöne Haut.	Algenmenge geringer, auch gut gewachsen.	Wie in 4, kein erheblicher Unterschied.	Haut ist zart geblieben.	Sehr schwache Vermehrung.

noch gutes Wachstum erhalten werden. Die Grenze, wo überhaupt noch sichtbares Wachstum möglich ist, liegt für Oscillaria brevis in Kultur 5 bei gleichem Mengenverhältnis des primären und sekundären Phosphates. Für die übrigen Arten muß bereits ein Übergewicht von Dikaliumphosphat gegenwärtig sein. So zeigt Oscillaria tenuis und Nostoc spec. erst gutes Wachstum in Lösung 6, Cylindrospermum licheniforme und Calothrix stellaris in Lösung 7.

Verschiedene Gemische mit sekundärem und tertiärem Kaliumphosphat.

In folgendem Versuche soll gezeigt werden, in welchem Maße meine Blaualgen befähigt sind, sich wachsenden OH-Konzentrationen anzupassen, die in verschiedenen Mischungen von sekundärem und tertiärem Phosphat vorhanden sind. Die Nährlösung war dieselbe wie im vorhergehenden Versuch. Die Zugabe des Phosphatgemisches geschah wieder in der Weise, daß die komplette Nährlösung $^1/_{200}$ Mol an Phosphaten aufwies. Lösung 1 enthielt nur sekundäres Phosphat und Lösung 7 nur tertiäres, während die Lösungen in der Mitte verschiedene Gemische darstellten. Am 29. Oktober 1913 wurden alle Arten in die Lösungen, wie aus nebenstehender Tabelle hervorgeht, geimpft. Das Resultat war am 3. Dezember folgendes:

In Lösung 1, in der nur sekundäres Phosphat zugegen war, hatten sich alle Arten vorzüglich entwickelt, ebenso in den Kulturen 2 und 3 bei einem Überschuß von Dikaliumphosphat. Im Hinblick auf die erhaltenen Algenmengen mußten diese Kulturen als die besten angesehen werden. Gutes Wachstum wurde dann noch bei den meisten Arten in Lösung 4 erhalten. Die Algenmengen begannen in dieser Lösung meistens etwas abzunehmen, doch waren die Unterschiede nicht immer scharf. Deutliche Abnahme trat in den Kulturen 5 und 6 ein, während Lösung 7, die nur tertiäres Phosphat enthielt, sich für Cylindrospermum licheniforme und Calothrix stellaris ungünstig erwies. Die Oscillarien und Nostoc waren darin noch gewachsen, besonders Oscillaria brevis. Im großen und ganzen war das Wachstum aber nur mäßig.

Ich komme nun auf die Wachstumsergebnisse der einzelnen Arten näher zu sprechen. Oscillaria brevis hatte sich in den Kulturen 2 bis 4 am besten entwickelt, abgesehen von der ebenso gut gewachsenen Kultur 1, die nur Dikaliumphosphat enthielt und in der Versuchsreihe mehr als Kontrollkultur diente. Ein Unterschied im Wachstum zwischen dieser Kultur und den übrigen von 2 bis 4 war nicht zu bemerken. Die Kulturen waren gleich gut gewachsen und hatten annähernd gleich viel Algenmasse hervorgebracht. Erst in Lösung 5 war eine merkliche Abnahme der Algensubstanz zu erkennen, die in Lösung 6 und 7 deutlich zunahm. Trotzdem sahen aber die letzten Kulturen außer 7 noch gut aus, wenn das Algenmaterial

auch gering geblieben war. Oscillaria tenuis zeigte das beste Wachstum in den Lösungen 1 bis 3. Auf der Oberfläche der Kulturflüssigkeit schwamm ein schönes grünes Netz. In Lösung 4 begannen sich aber die Fäden zu einer dichten Kugel zu vereinigen, die am Boden des Gefäßes lag. In diesem Stadium beharrten auch die übrigen Kulturen 5 bis 7. Eine Abnahme der Algensubstanz hatte bereits in Lösung 5 stattgefunden. Kultur 7 war im Wachstum zurückgeblieben. — Nostoc spec. hatte die größten Algenmengen in den Kulturen 1 bis 3 gebildet. Gut war noch Kultur 4 gediehen. Hier war die Algenhaut bereits dünner geworden. In den Kulturen 5 bis 7 hatten sich die Fäden zu Klumpen vereinigt und zeigten somit ein ähnliches Verhalten wie Oscillaria tenuis.

Cylindrospermum licheniforme war ebenfalls am besten in den Lösungen 1 bis 3 gewachsen. Eine geringe Verminderung der Algensubstanz fand in Kultur 4 statt. In den Lösungen 5 und 6 war das Wachstum sehr gering, in Lösung 7 gleich Null.

Calothrix stellaris zeigte im wesentlichen denselben Entwicklungsgang wie die vorhergehende Art.

Demnach wird von den Blaualgen etwas mehr Basicität als Acidität vertragen, sie sind nach beiden Seiten ungleich empfindlich; denn KH_2PO_4 reagiert noch kaum sauer.

VI. Übersicht und ökologische Bedeutung der Ergebnisse.

Die verschiedenen Stickstoffsalze fördern das Wachstum der Blaualgen mehr oder minder gut. Daß dasselbe von der Art des Kations abhängig ist, habe ich wiederholt betont. So erweist sich von den Nitraten das Kaliumnitrat, da es nach Verbrauch des Anions mit der Kohlensäure der Luft zu dissoziiertem alkalischen Karbonat zusammentritt, schädlicher als das gut brauchbare, physiologisch neutrale Calciumnitrat. Auch das sekundäre Ammoniumphosphat ist, da die Phosphorsäure verhältnismäßig wenig dissoziiert, gut anwendbar. Anders verhält es sich aber mit den übrigen Ammoniumverbindungen. Ammoniumsulfat erwies sich ungünstig für Blaualgenkulturen, da nach Abbau des Kations sich in der Nährlösung die schädigenden Wirkungen der H-Jonen Anhäufung bemerkbar machen. Bei Ammoniumnitrat dagegen ist die Giftwirkung wohl eine solche des Kations; denn die Blaualgen ziehen offenbar das NO_3' vor, und freies Ammoniak ist schädlich.

Alle bei meinen Versuchen verwendeten Stickstoffsalze lassen ein Wachstumsoptimum erkennen. Daß dasselbe einer mehr oder minder hohen Konzentration entspricht, beruht einerseits auf der Giftigkeit der verwendeten Salze, andererseits auf der Empfindlichkeit der Arten. Calciumnitrat stellt neben dem auch noch gut verwendbaren sekundären Ammoniumphosphat die günstigste Stickstoffquelle für Blaualgen dar. Daher liegen die Wachstumsoptima fur diese Salze bei einer höheren

Konzentration als bei den anderen Stickstoffsalzen wegen der in den Nährlösungen der letzteren auftretenden Reaktionsänderungen. Wie ferner aus der Tabelle hervorgeht, liegt das Wachstumsoptimum auch für ein und dasselbe Salz, z. B. $Ca(NO_3)_2$, nicht für alle Arten bei demselben Konzentrationspunkt. Man muß daher ein verschiedenes Stickstoffbedürfnis der Cyanophyceen annehmen. Die größte Stickstoffmenge beanspruchen die Oscillarien und einige Cylindrospermum-Arten: Cyl. licheniforme f. typ. und Cyl.†[1]) minutissimum. Eine Mittelstellung nehmen Nostoc und Cyl.† licheniforme f. Lemm. ein, und am anspruchslosten erweisen sich Calothrix stellaris und die übrigen Cylindrospermum-Arten: Cyl.† muscicola, Cyl.† catenatum, Cyl.† majus.

Es fragt sich nun, wie sind die Lebensgewohnheiten und die Standortsverhältnisse der einzelnen Arten in der freien Natur mit den Erfahrungen, die wir aus den Ernährungsversuchen mit verschiedenen Stickstoffquellen gewonnen haben, in Einklang zu bringen. Das verschiedene Stickstoffbedürfnis der Cyanophyceen spricht dafür, daß die Arten bei der Besiedelung des Bodens von dem jeweiligen verfügbaren Stickstoffgehalt abhängig sind. Diejenigen Arten, die am wenigsten Stickstoff bedürfen, wie Calothrix und die Mehrzahl der Cylindrospermum-Arten, werden den Kampf ums Dasein auf stickstoffarmen Böden besser bestehen als die viel anspruchsvolleren Oscillarien, und daher in der Bodenflora vorherrschen. Bei der Wiederbesiedlung[2]) des im Jahre 1883 durch eine furchtbare Eruption aller Vegetation beraubten Teiles der Insel Krakatau traten Cyanophyceen als erste Organismen auf dem sterilen Aschen- und Steinboden auf, die später Farnsporen in ihren Gallertlagern durch Festhalten hinreichender Feuchtigkeit das Keimen ermöglichten. Unter den Cyanophyceen befand sich Anabaena, eine dem Nostoc nahe verwandte Art, die wahrscheinlich ebenfalls wie dieser ein nicht allzugroßes Stickstoffbedürfnis aufweist. Die an größere Stickstoffmengen gewöhnten Oscillarien fehlten noch.

Eine Stütze findet diese Beobachtung durch folgende Versuche. Bei den zahlreichen Anhäufungsversuchen meines Kollegen Glade war mir aufgefallen, daß neben Cylindrospermum- in der Hauptsache Anabaena- und Nostoc-Arten und nur in drei Fällen Oscillarien gewonnen wurden. Bei dem ungeheuren Artenreichtum der Oscillarien ist dies Ergebnis auffallend. Da die Oscillarien wie die meisten Cyanophyceenarten kosmopolitisch sind, so ist das Ausbleiben derselben

---

[1]) Die mit einem Kreuz versehenen Arten wurden von meinem Kollegen Glade untersucht.

[2]) M. Treub, Notice sur la nouvelle flore de Krakatau. Ann. de Buitenzorg. VII. 213. 1888.

Wachstumsoptima und Wachstumsgrenzen in verschiedenen N-Quellen.

	$Ca(NO_3)_2$	$(NH_4)_2HPO_4$	KNO_3	KNO_2	$(NH_4)_2SO_4$	NH_4NO_3	
Oscillaria brevis.	0,1%	0,1%	0,025%	0,01%	0,01%	0,01%	Optimum.
	0,5%—0,01%	0,5% – 0,01%	0,1% – 0,01%	0,1%—0,01%	0,05%—0,01%	0,05%—0,01%	Wachst.-Grenzen.
Oscillaria tenuis.	0,1%	0,025%	0,01%	0,01%	0,01%	0,01%?	Optimum.
	0,5%—0,01%	0,1% – 0,01%	0,1%—0,01%	0,1% – 0,01%	0,05%—0,01%	0,05%—0,01%	Wachst.-Grenzen.
Nostoc spec.	0,05%	0,025%	0,01%	0,01%?	0,01%?	0,01%	Optimum.
	0,1%—0,01%	0,1%—0,01%	0,1%—0,01%	0,05%—0,01%	0,05%—0,01%	0,05%—0,01%	Wachst.-Grenzen.
Calothrix stellaris	0,025%	0,01%	0,01%	0,01%?	0,01%?	0,01%?	Optimum.
	0,1%—0,01%	0,05%—0,01%	0,05%—0,01%	0,05%—0,01%	0,05%—0,01%	0,05%—0,01%	Wachst.-Grenzen.
Cylindrospermum licheniforme f. typ.	0,1%	0,025%	0,01%	—	—	—	Optimum.
	0,25%—0,01%	0,1%—0,01%	0,05%—0,01%	0,025%—0,01%	0,05%—0,01%	0,05%—0,01%	Wachst.-Grenzen.
Cyl.†) muscicola.	0,01%	0,01%	0,01%	—	0,01%		Optimum.
	0,1%—0,01%						Wachst.-Grenzen.
Cyl.†) minutissimum	0,1%	—	0,01%	—	—		Optimum.
	0,1%—0,01%						Wachst.-Grenzen.
Cyl.†) catenatum.	0,01%	0,01%	—	—	0,01%?		Optimum.
	0,1% – 0,01%						Wachst.-Grenzen.
Cyl.†) majus.	0,01%	0,01%	0,01%?	0,01%?	0,01%		Optimum.
	0,1% – 0,01%						Wachst.-Grenzen.
Cyl.†) licheniforme f. Lemm.	0,05%	0,01%	0,01%	0,01%?	0,01%		Optimum.
	0,1%—0,01%						Wachst.-Grenzen.

†) Die mit einem Kreuz versehenen Arten wurden von meinem Kollegen Glade untersucht. Zur Kenntnis der Gattung Cylindrospermum. S. 318—326.

der Stickstoffarmut in den Anhäufungsversuchen zuzuschreiben, sodaß nur die sich mit sehr geringen Stickstoffmengen begnügenden Arten wie Cylindrospermum und Nostoc sich entwickeln konnten. Trotzdem könnte aber folgender Einwand geltend gemacht werden. Warum gelang es nicht, bei den Anhäufungsversuchen irgend eine Calothrix spec. oder eine ihr verwandte Art, die ebenfalls nur an geringe N-Mengen gebunden ist, zu erhalten? Wenn man die Standortsverhältnisse dieser Gattung in Betracht zieht, so findet man, daß Calothrix-Arten zumeist Überzüge an Wasserpflanzen und untergetauchten Gegenständen bilden, während die Oscillarien, Nostocaceen

und Cylindrospermum-Arten mit Vorliebe feuchte Stellen des Erdbodens besiedeln. Da die Erdproben für die Anhäufungsversuche mit Absicht hauptsächlich nur diesen Stellen entnommen wurden, wo man Cylindrospermum vermutete, so dürfte es nicht ausgeschlossen sein, daß die Standorte, die für Calothrix günstig sind, beim Sammeln übergangen wurden, zumal der Artenreichtum nicht sehr groß ist. Aus dem Dargelegten darf man aber nicht schließen, daß Calothrix und Cylindrospermum nur an stickstoffarmen Orten wachsen. Ebenso gut kommt Cylindrospermum auch an Stellen mit höherem Stickstoffgehalt vor. In diesem Falle wird aber der Kampf ums Dasein, wie schon Glade betont, mit den Oscillarien, die sich bei reichlicher Stickstoffnahrung sehr stark vermehren, einsetzen.

Von den Elementen, die das Wachstum der Blaualgen beeinflussen, sind ferner Calcium und Kalium zu nennen. Diese für die Algenernährung notwendigen Elemente können nicht durch ihre nächsten Anverwandten ersetzt werden. So konnte das Kalium nicht durch Natrium vertreten werden, während das Calcium nur für eine gewisse Zeit durch Strontium ersetzt werden kann. Doch von einer völligen Vertretbarkeit kann nicht die Rede sein. Daß die Blaualgen Kalium zu ihrer Entwicklung bedürfen, zeigten auch die Versuche, in denen dieses unentbehrliche Element bis zum Minimum abgestuft wurde. Die Werte, wo optimales Wachstum stattfindet, und in welchen Grenzen sich das Wachstum im allgemeinen bei den einzelnen Arten bewegt, sind in untenstehender Tabelle sowohl für Kalium als auch Phosphor beigegeben.

Optimale Konzentration des Kaliums und des Phosphors.

	K.	P.	
Oscillaria brevis.	0,005%	0,01% u. 0,005%	Optimum.
	0.025%—0,0001%	0,01%—0,0001%	Wachstumsgrenzen.
Nostoc spec.	0,001%	0,001%	Optimum.
	0,01%—0,0001%	0,01%—0,0001%	Wachstumsgrenzen.
Calothrix stellaris.	0,005%	0,001%	Optimum.
	0,01%—0,0001%	0,01%—0,0001%	Wachstumsgrenzen.
†) Cylindrospermum lich. f. typ.		0,01%	Optimum.
		0,02%—0,0001%	Wachstumsgrenzen.
†) Cylindrospermum lich. f. Lemm.		0,005%	Optimum.
		0,02%—0,0001%	Wachstumsgrenzen.

Die Blaualgen verhalten sich in ihrem Nährsalzbedürfnis genau wie höhere Pflanzen, doch ist bei der Wahl der Salze und der Bereitung der Nährlösungen auf die Reaktion der Flüssigkeit viel strenger zu achten als es bei den letzteren der Fall ist. Am besten gedeihen

Cyanophyceen in einer schwach alkalischen Lösung, wie sie durch das sekundäre Kaliumphosphat erreicht wird. Dagegen wirkt, wie aus den Versuchen mit Phosphatgemischen hervorgeht, schon die schwächste Acidität hemmend auf das Wachstum. Ein Steigen der Basicität dagegen wird besser vertragen.

VII. Zusammenfassung.

1. Jedes Stickstoffsalz läßt bei einer bestimmten Konzentration ein Optimum des Wachstums bei den kultivierten Blaualgen erkennen. Dasselbe ist von der in der Nährlösung auftretenden Reaktion mehr oder minder abhängig.

2. Calciumnitrat stellt die günstigste Stickstoffquelle dar, erst in weiterem Abstande folgen Ammoniumphosphat und Kaliumnitrat. Kaliumnitrit konnte von Oscillarien verwendet werden, erwies sich aber nicht günstig für die anderen Arten. Ammoniumsulfat und Ammoniumnitrat waren nicht gut brauchbar.

3. Das Stickstoffbedürfnis ist bei den einzelnen Arten verschieden. Die größte Stickstoffmenge beanspruchen die Oscillarien, Cylindrospermum licheniforme f. typ. und Cylindrospermum minutissimum, die geringste die übrigen Cylindrospermum-Arten und Calothrix stellaris. In der Mitte steht Nostoc. In stickstofffreien Nährlösungen war bei allen Arten keine Entwicklung möglich.

4. Calcium ist ein unentbehrliches Element für die untersuchten Blaualgen. Eine völlige Ersetzung derselben durch Strontium ist nicht möglich.

5. Kalium kann nicht durch Natrium ersetzt werden. Meine Cyanophyceen brauchen erhebliche Mengen dieses unentbehrlichen Elementes zu ihrer Ernährung.

6. Nährlösungen, die schwache Alkalität aufweisen, wie sie durch das sekundäre Kaliumphosphat erhalten wird, sind am vorteilhaftesten für Blaualgenkulturen. Ein Anwachsen der Basicität wird besser vertragen als ein Steigen der Acidität.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden von S.-S. 1912 bis W.-S. 1913/14 im Botanischen Institut der Universität Halle-Wittenberg ausgeführt.

Es sei mir auch an dieser Stelle gestattet, meinen hochverehrten Lehrern Herrn Professor Dr. G. Karsten und Herrn Professor Dr. Pringsheim meinen verbindlichsten Dank auszusprechen. Herrn Professor Pringsheim verdanke ich die Anregung zu dieser Arbeit und die liebenswürdige Förderung bei ihrer Ausführung, und Herrn Professor Dr. Karsten bin ich für das dauernde Interesse zu Dank verpflichtet.

Lebenslauf.

Geboren wurde ich, Karl Heinrich Maertens, am 1. Januar 1888 zu Naumburg a. S., Kreis Naumburg, als Sohn des Realgymnasialprofessors Hermann Maertens. Von Ostern 1895 bis Ostern 1898 besuchte ich die städtische Vorschule zu Naumburg, von da an das Domgymnasium meines Geburtsortes, das ich Ostern 1901 mit dem dortigen Realgymnasium vertauschte. Dasselbe verließ ich Ostern 1909 mit dem Zeugnis der Reife. Ich widmete mich dann dem Studium der Chemie, Erdkunde, Botanik, Zoologie und Philosophie, und zwar von Ostern 1909 bis Michaelis 1911 in Freiburg i. B., seitdem in Halle.

Meine Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten in Freiburg:

Gattermann, Günther, Himstedt, Kniep, Königsberger, Lüroth, Neumann, Oltmanns, Schleip, Weismann, Übinger;

in Halle:

Boeke, Fries, Haecker, Jänsch, Karsten, Menzer, Philippson, Pringsheim, Ruhland, Schenk, Schlüter, Scupin, Tubandt, Vorländer.

Alle meine hochverehrten Lehrer mögen meines dauernden Dankes gewiß sein.

Druck von R. Nischkowsky in Breslau